

⑬ Int. Cl.⁴ 識別記号 庁内整理番号 ⑭ 公開 昭和60年(1985)12月9日
 A 61 K 39/395 7043-4C
 39/40 7043-4C
 C 12 Q 1/00 8213-4B ※審査請求 未請求 発明の数 3 (全15頁)

⑮ 発明の名称 トリないしウシ抗体を用いた哺乳動物の受動免疫化方法及びそのための組成物

⑯ 特 願 昭60-22742

⑰ 出 願 昭60(1985)2月7日

優先権主張 ⑱ 1984年2月7日 ⑲ 米国(US) ⑳ 577804

㉑ 発 明 者 ラルフ、ジェー、スト アメリカ合衆国オハイオ州、オレゴニア、ノース、ウェイ
 ール ンズビル、ロード、2099

㉒ 出 願 人 ストール、リサーチ、 アメリカ合衆国オハイオ州シンシナチコーネル、ロード、
 エンド、デイベロプロメ 6990
 ント、コーポレーション
 ン

㉓ 代 理 人 弁理士 猪 股 清 外3名
 最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称 トリないしウシ抗体を用いた
 哺乳動物の受動免疫化方法及
 びそのための組成物

2. 特許請求の範囲

1. 下記の a) および b) を含んでなることを特徴とする、抗原によりひき起こされた状態に対する哺乳動物の受動免疫化に有用な組成物。
 - a) 該抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られた該抗原に対する高められた抗体力価を有する物質、及び
 - b) 該抗原に対して免疫化されたウシ科動物の牛乳から得られた、該抗原に対して高められた抗体力価を有する物質。
2. 該家禽がニワトリであり、該ウシ科動物が畜牛である、特許請求の範囲第1項記載の組成物。
3. 卵及び乳に由来する該物質が脱水された形態で含まれる、特許請求の範囲第1項記載の組成

物。

4. 組み合わされた有効量の下記の a) および b) を含んでなることを特徴とする、抗体により引き起こされた状態に対する哺乳動物の受動免疫化に有用な組成物。
 - a) 該抗原に対して免疫化された家禽から精製された抗体、及び
 - b) 該抗原に対して免疫化されたウシ科動物からの精製された抗体。
5. 該家禽がニワトリであり、該ウシ科動物が畜牛である、特許請求の範囲第4項記載の組成物。
6. 該家禽抗体が該家禽の卵から精製されたものであり、該ウシ科動物の抗体が該ウシ科動物の乳から精製されたものである、特許請求の範囲第4項記載の組成物。
7. 非経口的に注射可能な媒体中に、抗原物質に対して免疫化されたウシ科動物の血清或いは食品から得られた異種の高分子量蛋白質抗体を含んでなり、該抗体が抗体を投与した対象において血清病或いはアナフィラキシショックを引

き起こさないものであることを特徴とする、非経口投与用蛋白質抗体組成物。

8. 該抗体が免疫化されたウシ科動物の血清成いは乳から得られる、特許請求の範囲第6項記載の組成物。

9. 該抗体がIgG抗体である、特許請求の範囲第6項記載の組成物。

3. 発明の詳細な説明

発明の背景

発明の分野

本発明は、免疫化された家畜及び(又は)ウシ科動物種から得られた異種の抗体で哺乳動物を受動的に免疫化する方法に関する。

背景技術の説明

IgA、IgM及びIgGなどの各種抗体タイプよりなる血清グロブリン画分を使用して対応する抗原に対抗し、それによつて抗原の有害な影響を中和することが出来ることは免疫学の分野の当業者にはよく知られている。各種抗原には菌毒性、細菌

及びウイルス種、及び植物及び動物起源の生体制御因子、並びに毒素(トキシン)及び毒物などが含まれる。

通常、外来抗原に曝されると動物の免疫系は抗原の生体制御的及び(又は)有害な影響を中和する。ある哺乳動物の免疫系は外来抗原への曝露は自然に生ずることがあり、また宿主をワクチンの形態で抗原の意図的な投与により抗原に曝すことも出来る。動物が抗原性物質でワクチン投与されると、対象動物が抗体を産生する免疫応答が生ずる。この過程は、一般的に、抗原に曝された宿主の能動免疫化と称される。能動免疫化により任意の動物種により産生される抗体は、該動物種に対する同種(ホモロガス)の抗体である。

一つの種に産生された抗体を使用して他の種における対応抗原の影響を中和することが出来ることはよく知られている。一つの種からの抗体が他の個体において産生された抗体から免疫保護を受け取る時には受動免疫化が生ずる。この過程は供与体から受領体への抗体の移動を必要とする。

供与体と受領体とが同一種(スペシーズ)である場合には、抗体は同種(ホモロガス)である。他方、供与体と受領体が異種である場合には抗体は異種(ヘテロロガス)であると云われる。

受動免疫化は病気の予防及び治療のための有効な方法を提供するものであることが知られているが、ヒトの医学における受動免疫化の使用には制約がある。同種のヒト抗体配合物は一般的に利用可能ではないからである。他方、供与体動物種において産生された異種抗体によるヒトの受動免疫化は、緊急の状況においてのみ使用される。異種抗体の使用は危険なことがあるからである。ヒトの治療において異種抗体が使用される状況の具体例としては、ウマにおいて産生されるヘビ毒及びヘチ毒抗血清の使用などが挙げられる。これらの抗体はヘビ及びヘチの毒を中和し、それによりその有害な影響を除去及び減少させる。

異種抗体によるヒトの受動免疫化は、非ヒト起源の抗体がヒトの免疫系に対して外来のものであるので安全ではない。受領者の免疫系は外来供与

者抗体蛋白質への曝露は、受領者中に外来抗原に対する免疫反応を生じさせる。この免疫応答は、アナフィラキシーショック及び死に到ることのある血清の病気を引き起こす。従つて、異種抗体は知られていて有益な用途があるにも拘らず、この治療方法は安全の考慮から一般的には使用されていない。

ニワトリ、シチメンチョウ及びアヒルなどの家禽類がトリの病気を引き起こす因子並びにその他の抗原に対する抗体を血液及び卵中に産生することは公知である。例えば、ルバック-フェルハイデン等[LeBacq-Verheyden et al.: Immunology, 27, 683 (1974)及びネッスル, G.A.等Nestle, G.A. et al.: J. Med., 130, 1337 (1967)]は、ニワトリの免疫グロブリンを定量的に分析した。ポルソン等[Polson, A. et al.: Immunological Communications, 2, 495-514 (1980)]は、幾つかの蛋白質及び蛋白質の自然混合物に対して雌トリを免疫化させ、卵の黄味中にIgY抗体を検出した。フアーテル等

[Pertel, R. et al.: Biochemical and Biophysical Research Communications, 102, 1028-1033 (1981)] は雌トリをプロスタグランジン類に対して免疫化させ、卵黄中に抗体を抽出した。ジェンセウス等 [Jencenius et al.: Journal of Immunological Methods, 46, 363-68 (1981)] は免疫診断用に卵黄 IgG を単離する方法を提供している。ポルソン等 [Polson, A. et al.: Immunological Communications, 9, 475-493 (1980)] は、各種植物ウイルスで免疫化された雌トリの卵黄から単離された抗体を記載している。

しかしながら、これら文献の全ては、各種抗原に対して産生されたトリの免疫グロブリンの研究にのみ関するものであるが、これらの抗原はその全てが必ずしも哺乳動物の病気或いは病態に特異的に影響を及ぼす或いは原因となるものではないのである。前記のポルソン (両論文 1980) 或いは上記ジェンセウスの論文は、診断操作における哺乳動物の抗体の代りにトリの抗体の使用を示

唆している。ポルソン [Polson: Immunological Communications, 475-493 (1980)] は 491 頁において、新たに孵化したニワトリをそれらの母トリが感染されなかつた病気に対して受動的保護を与える可能性があることを示唆している。すなわち、この病気に対して超免疫化された雌トリから得られた卵黄 IgY をヒヨコに注射することによる方法である。この示唆は、推論的であることに加えて、仮え異つた個体であつても同一種から得られた抗体による一つの種の同種の受動免疫化のみを取扱うにすぎない。

上記ジェンセウス等 [Jencenius et al.: Journal of Immunological Methods, 46] は 67 頁において「多量のきちんと包括された抗体を与えることにより、抗体の腸内蛋白質分解酵素による劣化を最少にする手段が取られるならば、適当な免疫化されたニワトリからの卵は何等かの腸内感染症の有用且つ無害の治療となると推論することも可能である」と述べている。これらの著者はキャンベル等 [Campbell et al.: Journal

of Immune Milk, 1: 3 (1964)] の研究を引用して、免疫化された動物からの乳により感染症を治療する考えとの類似性を示している。このジェンセウス等における示唆は、自らも認めるように、推論である。更に、それは抗体が腸内蛋白質分解酵素により劣化されるであろうという警告も伴っている。

鳥類と哺乳類とは系統発生上は離れているので、ニワトリその他の家禽を哺乳動物の病気或いは病態に対する抗体を産生するものとして選択することは非論理的であつた。哺乳動物類の治療に意図された免疫治療生成物に対する抗体の明らかな選別は、密接な生態発生の関連性を有する他の哺乳動物であつた。例えば、ニワトリの蛋白質はヒトの免疫系に対して外来性であるので、ヒトの患者を非経口投与配合剤により投与されるニワトリの抗体で治療することは論理的ではなく、また経口使用によりアレルギー反応を引き起こすであろう。事実、トリの卵に由来する抗体を哺乳動物における病態を予防或いは治療するのに使用したと

いう何等の証拠も科学文献にはない。

発明の概要

本発明は、血清病或いはアナフィラキシーショックを惹ける条件下に異種の低抗原性蛋白質配合物を投与する方法を提供するものである。本発明は、また、血清病或いはアナフィラキシーショックを惹ける条件下において免疫化された家禽の血清及び (又は) 食品生成物から得られた異種の低抗原性 IgG 配合物を投与する方法を提供するものである。

本発明は、従つて、抗原により引き起こされた状態に対して哺乳動物を異種受動免疫化する方法からなるものである。ここで、この方法は、該哺乳動物に該抗原に対して免疫化された家禽から得られた免疫学的に有効量の抗体を投与することからなるものである。ここで、該哺乳動物は、該家禽の卵に由来する物質を食物源として消費する層を有するところから該抗体に対して耐性を有するものである。

本発明は、1984 年 2 月 7 日米国特許庁に「受

動免疫化用異種蛋白質抗体配合物」に対してベック及びストールにより出願された米国特願第577,804号に開示及び特許請求されている発明の更なる発展に関するものである。この米国特願の開示内容をここに準用するものとする。

米国特願第577,804号においては、哺乳動物の受動免疫化方法が特許請求されているが、この方法は、ある抗原性物質に対して免疫化されたウシ科動物の乳から得られた精製された異種抗体を非経口的に注射することよりなるものである。ここで、該哺乳動物はその様な家畜化されたウシ科動物の乳の消費の履歴を有するものである。この米国特願には、哺乳動物の受動免疫化方法も開示されている。この方法は、ある抗原性物質に対して免疫化された家禽の卵から得られた精製された異種抗体を非経口的に注射することよりなるものである。ここで、該哺乳動物はその様な家禽動物の卵を消費する履歴を有するものである。

本発明は、卵抗体の投与が非経口的のみならず如何なる適当な経路であつても良い点において、

- a) 該哺乳動物に、該抗原に対して免疫化されたウシ科動物の乳から得られた該抗原に対して高められた抗体力価を有する物質を、該哺乳動物が該抗体に対して実質的耐性を生ずるまで与える。
- b) 該哺乳動物に、非経口注射により該抗原に対して免疫化された家畜化されたウシ科動物から得られた免疫学的に有効量の抗体を投与する。

本発明は、各種投与方法、各種条件並びにそれらにおいて有用な各種組成物にも関するものである。

例えば、好ましい実施態様において、本発明は下記の(a)および(b)を共に含んでなる組成物に関する。

- a) 所与の哺乳動物の抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られた該抗原に対して高められた抗体力価を有する物質。
- b) 該抗原に対して免疫化された家畜化されたウシ科動物の乳から得られた該抗原に対する高められた抗体力価を有する物質。

本発明のもう一つの面においては、下記の(a)お

米国特願第577,804号に開示される概念を包含し、且つ拡張するものである。

更に一つの態様において、本発明はある抗体により引き起こされた状態に対して哺乳動物を異種受動免疫化する方法に関する。ここで、この方法は下記からなるものである。

- a) 該哺乳動物に、該抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られた該抗原に対する高められた抗体力価を有する物質を、該哺乳動物が該抗体に対して実質的な耐性を生ずるまで与える。
- b) 該哺乳動物に、該抗体に対して免疫化された家禽から得られた免疫学的に有効量の抗体を投与する。

この様に、この実施態様においては、家禽から得られた抗体を哺乳動物に投与する前に哺乳動物にはその抗原に対して免疫化された家禽の卵に由来する物質が与えられる。

もう一つの実施態様においては、本発明はある抗原に対して引き起こされた状態に対する哺乳動物の異種受動免疫化方法に関する。ここで、この方法は、下記からなるものである。

よび(b)を共に含む組成物が提供される。

- a) 所与の哺乳動物の抗原に対して免疫化された家禽の卵から精製された抗体。
- b) 該抗原に対して免疫化されたウシ科動物の乳から精製された抗体。

本発明は、下記の(a)および(b)を含んでなる組成物をも提供するものである。

- a) 非経口用抗体。
- b) ある抗原に対して免疫化された家禽の卵から精製された抗体であつて、抗体を投与した対象中に血清病或いはアナフィラキシーショックを生じさせないもの。

更に本発明は、下記の(a)および(b)を含んでなる組成物を提供するものである。

- a) 非経口用抗体。
 - b) ある抗体物質に対して免疫化されたウシ科動物の血清或いは食品生成物から得られる抗体であつて、抗体を投与した対象中に血清病或いはアナフィラキシーショックを生じさせないもの。
- を含んでなる組成物を提供するものである。

好ましい実施態様の説明

ある動物の免疫系の外来蛋白質に反応できないということは、免疫学的耐性として知られた状態のことである。更に、ある種の哺乳動物は他の哺乳動物種を含む各種動物種からの抗体に対して耐性を欠くことも免疫学の分野の当業者にはよく知られている。従つて、外来種から得られた異種抗体が哺乳動物を治療するために安全に使用することが出来ないことは明らかである。本発明の発見は、この一般的に了解された異種免疫学の見解に対する例外である。ある哺乳動物の免疫系は家禽の血清或いは卵生成物中に見出される異種抗体に対して耐性となり得ることが見出された。この耐性は、異種の鳥類からの抗体を含有する物質を予め給与された個々の哺乳動物に生ずるものである。異種の家禽からの抗体を含有する物質を給与されなかつた個体は、引き続き給与されるトリの抗体に対して耐性を欠く。

この様に、本発明の本質的特徴は、各種抗原に対して特異的に免疫化された家禽の血清或いは卵

生成物から得られる異種抗体を縫口、腹腔内或いは非経口（創ち、静脈内或いは筋肉内）投与などにより血清病或いはアナフィラキシー反応を引き起こすことなく哺乳動物類に受動的に投与することが出来るということである。

本発明のもう一つの本質的特徴は、各種抗原に対して特異的に免疫化された家禽化されたウシ科動物の血清或いは食品から得られた異種抗体は非経口投与により血清病或いはアナフィラキシー反応を引き起こすことなく哺乳動物に受動的に投与することが出来るということである。

上記のように、異種抗体投与に必要な条件である免疫系耐性は自然に起こるものではなく、トリの抗体を含有する物質を給与することにより哺乳動物内において時間をかけて作り上げなければならない。

如何なる哺乳動物も本発明の方法により治療することが出来る。これらには、ウサギ、畜牛、ウマ、ヤギ、ヒツジ及びその他の酪農において使用される種などの家禽化された哺乳類が挙げられる。

非家禽化哺乳動物例えばサルもまた治療することが出来る。最後に、本発明はヒトの受動異種免疫化にも適用可能である。

任意の抗原或いは抗原の組み合わせを使用することが出来る。抗原は細菌性のものでも、ウイルス性のものでも、細胞性のものでも、或いは家禽或いは家禽化ウシ科動物の免疫系統が応答し、トリ或いはウシ中に免疫感度の状態を誘発する任意のその他の物質、であり得る。これらの抗原は、哺乳動物類内に各種の状態例えば微生物或いはウイルス誘発感染症、毒性状態などを引き起こすものが好ましい。細菌抗原の適当な具体例としては、シユードモナス・アエルギノサ (*Pseudomonas aeruginosa*)、シユードモナス・マルトフィア (*Pseudomonas maltophilia*)、ストレプトコッカス・エキシミリ (*Streptococcus equisimilis*)、ストレプトコッカス・ディスガラクトイア (*Streptococcus dysgalactiae*)、ストレプトコッカス・ウベリス (*Streptococcus uberis*)、ストレプトコッカス・ボビス (*Streptococcus*

bovis)、パスツウレラ・ムルトシダ (*Pasteurella multocida*)、パスツウレラ・ヘモリチカ (*Pasteurella haemolytica*)、モラクセラ・ボビス (*Moraxella bovis*)、アクチノバチルス・リグニエレン (*Actinobacillus lignieresii*)、コリネバクテリウム・レナーレ (*Corynebacterium renale*)、フソバクテリウム・ネクロホルム (*Fusobacterium necrophorum*)、バチルス・セルス (*Bacillus cereus*)、サルモネラ・デュブリン (*Salmonella dublin*)、サルモネラ・ハイデルベルグ (*Salmonella heidelberg*)、サルモネラ・パラティフィ (*Salmonella paratyphi*)、エルシニア・エンテロコリタイカ (*Yersinia enterocolitica*)、スタフィロコッカス・アウレウス (*Staphylococcus aureus*)、スタフィロコッカス・エピデルミディス (*Staphylococcus epidermidis*)、ストレプトコッカス・ピオゲネス (*Streptococcus pyogenes*)、アエロバクター・アエロゲネス (*Aerobacter aerogenes*)、エシエリキア・コーリ (*Escher-*

ichia coli)、サルモネラ・エンテリチス・タイ
ス (Salmonella enteritidis)、クレブシエラ・
ニューモニエ (Klebsiella pneumoniae)、サ
ルモネラ・タイフィムリウム (Salmonella
typhimurium)、ヘモフィルス・インフルエンザ
エ (Haemophilus influenzae)、ストレプトコ
ククス・ビリダニス (Streptococcus virida-
ns)、プロテウス・ブルガリス (Proteus vulg-
aris)、シジラ・ディセンテリアエ (Shigella
dysenteriae)、ストレプトコッカス B 群
(Streptococcus Group B)、ディプロコク
クス・ニューモニエ (Diplococcus pneumoni-
ae)、ストレプトコククス・ミュータンス (Strep-
tococcus mutans)、コリネバクテリウム (Cor-
nebacterium)、アクネタイプ1及び3 (Acne,
Types 1 and 3) など、ネisseria・ゴノリ
(Neisseria gonorrhea)、ミコバクテリウム・
チューバクルオシス (Mycobacterium tubercu-
losis)、ヘモフィルス・バギナリス (Haemophi-
lus vaginalis)、b 群ストレプトコククス・

エコリ (Group b Streptococcus coli)、ミ
クロプラズマ・ホミニス (Mycoplasma homi-
nis)、ヘモフィルス・ディクレイ (Hemophi-
lus dycryl)、グラヌローマ・イングイナレ
(Granuloma inguinale)、リンパノパチア・
ベネレウム (Lymphopathia venereum)、トレ
ポネマ・パリダム (Treponema pallidum)、
ブルセラ・アボルタス (Brucella abortus)、
ブルセラ・メリテンシス (Brucella meliten-
sis)、ブルセラ・スイス (Brucella suis)、ブ
ルセラ・カニス (Brucella canis)、カンピロバ
クター・フエタス (Campylobacter fetus)、カ
ンピロバクター・フエタス・インテスティナリス
(Campylobacter fetus intestinalis)、レ
プトスピラ・ポモナ (Leptospira pomona)、リ
ステリア・モノシトゲネス (Listeria monoc-
ylogenes)、ブルセラ・オビス (Brucella
ovis)、クラミジア・ブシダフチ (Chlamydia
psittaci)、アクチノバチルス・エクーリ
(Actinobacillus equuli)、サルモネラ・アボ

ルタス・オビス (Salmonella abortus ovis)、
サルモネラ・アボルタス・エクイ (Salmonella
abortus equi)、コリネバクテリウム・エクイ
(Corynebacterium equi)、コリネバクテリウム・
ピオゲネス (Corynebacterium pyogenes)、ア
クチノバチルス・セミニス (Actinobacillus
seminis)、ミコプラズマ・ボビゲニタリウム
(Mycoplasma bovis genitalium)、クロストリ
ジウム・テタニ (Clostridium tetani) などが
挙げられる。

適当なウイルス抗原としては、エキネ・ヘルペ
ス・ウイルス (Equine herpes virus)、エキネ
アルテリテイス・ウイルス (Equine arteritis
virus)、IBR-IBPウイルス、BVD-MDウイル
ス、ヘルペス・ウイルス (Herpes virus) (ホ
モニスタイプ (homonis type) 1 及び 2) が挙げ
られる。

典型的なポリペプチド類は、受動免疫化が有用
である哺乳動物に影響を及ぼす蛋白質である。そ
れらには生体制御因子、ホルモン、酵素、ヘビ毒、

ハチ毒、毒素及びその他の昆虫及び爬虫類の毒な
どが挙げられる。哺乳動物内にトリ成いはウシの
抗体に対する耐性を発生させるためには、抗体に
対して免疫化された家畜或いは畜牛の食品から得
られた抗原に対する相当な耐性誘発量の抗体力価
を有する物質を哺乳動物が抗体に対する実質的な
耐性を有するようになるまで与えられる。通常、
これは少なくとも、約2週間〜数ヶ月の期間に基
づいて消費されなければならない卵物質或いは乳
を含有する餌を与えることにより達成される。比
較的若い動物或いはヒトに対して耐性の時間は約
10〜14日程度の短期間であり得る。比較的年老い
た動物及びヒトにおいては、耐性を獲得するため
の最低時間は数ヶ月までになることがある。好ま
しい実施態様においては、物質内の抗体力価はト
リの予備免疫化によりその通常の水準を超えて高
められる。

哺乳動物の免疫系の外来抗体に対する耐性は、
精製されたトリ成いはウシの抗体を経口して膀胱
内或いは筋肉内に注射した際に、その様な卵或い

は乳を消費する対象内においてアナフィラキシーショックの発症血清病がないことにより示される。耐性が生じたことの安全な表示は、トリ或いはウシの抗体の投与量を徐々に増大させることである。耐性が欠けるならば、注射の箇所に宿主内における免疫反応が伴う。これが起こる場合には、治療は中止されるべきである。投与が経口的に行われる場合には、耐性のないことは胃腸の苦痛を引き起こす。

哺乳動物に与えられるトリの物質は、通常の卵或いは与えられた抗原に対して高められた力価を有するものであつてもよい。その物質は、全卵、或いはその部分たとえば鶏んどのトリの抗体が集中の傾向を有する卵黄、であつてもよい。更に、その物質はその物質に存在するトリの抗体がその免疫学的効果を失わないような条件下、より具体的にはその中のトリの抗体が変性されないような条件下、で与えられるべきである。即ち、卵が哺乳動物の対象に与えられる場合には、それは蛋白質が変性された条件下にあるべきではない。

従つて、乳が哺乳動物の対象に与えられる場合には、乳は蛋白質が変性された条件下にあるべきではない。

本発明の明細書及び特許請求の範囲に用いられる「高められた力価」とは、抗原に対するトリ抗体力価が同一抗原に対して通常のトリ抗体のバックグラウンド水準よりも少なくとも100%高いときのそのトリ抗体力価を包含することを意味するものである。

卵の源として役立つ得る家禽としては、ニワトリ(chickens)、シチメンチヨウ、アヒル、ガチョウなどが含まれ、最も好ましくは、ニワトリである。

抗体の望ましい源であるウシ科動物としては、ウシ属が挙げられ、好ましくは畜牛、ヒツジ及びヤギが挙げられるが、最も好ましくは畜牛(cows)である。

耐性が一度哺乳動物内に達成されると、その哺乳動物は、所与の抗原に対する免疫反応性を有するトリまたはウシの抗体の投与の準備が整う。ト

鶏んどのトリの卵には、家禽に影響を及ぼす天然の抗原の宿主に対する抗体が含まれていることが知られている。本発明においては、その様な卵を哺乳動物に与えて耐性を誘発することが出来る。他方、哺乳動物に与えられる卵中の抗体力価は、家禽の卵に通常存在する抗体の力価よりも高いものであつてもよい。その様な場合には、抗体は鶏んどの場合において哺乳動物にあつては特異的であるが、鳥類には特異的ではない状態を引き起こす抗原と免疫学的に反応する性質を持つ。非免疫化家禽の卵黄に自然に存在する抗体は哺乳類に病態を引き起こす抗原に対して特異性を有しないが、しかしそれ等は免疫耐性を誘発するのには役立つものである。

哺乳動物に与えられるウシ科動物の物質は、通常の乳或いは所与の抗原に対して高められた力価を有するものであつてもよい。乳は、物質内に存在するウシの抗体がその免疫学的効果を失っていない条件より具体的にはその中のウシの抗体が、変性されていない条件下で与えられるべきである。

トリの抗体の投与は、各経路のいずれであつてもよいが、しかし、好ましくは経口投与或いは非経口注射例えば静脈内、腹腔内或いは筋肉内注射が良い。抗体の経口投与は、口及び胃腸管の病気を治療するために有効に使用することもできる。ウシ抗体による好ましい免疫化方法は、ある病態に対して有効な治療を与えるに十分な時間の筋肉内或いは静脈内注射によるものである。抗体は、直接与えられるか或いは通常の薬学的に許容可能な液体或いは個体剤と組み合わされて投与される。最も普通には、異種抗体は液体配合物としての非経口注射により投与される。

卵消費の結果として対象内に予め発生した免疫耐性は、トリ或いはウシ抗体を使用する受動免疫化を安全且つ有効にする。これらの抗体は、沈殿、抽出、クロマトグラフィー、分別などの公知の手段により精製したものであるのが好ましい。「精製した」とは、実質的にトリ或いはウシ起源のその他の(おそらくは免疫原性の)蛋白質或いは非蛋白質成分がない任意のトリ或いはウシ抗体を包

含するものである。その様な成分としては、例えば抗体、細胞、細胞断片、膜断片、脂質類、核酸、オルガネル等が挙げられるが、それ等の蛋白質に限定されるものではない。

耐性宿主後に哺乳動物に投与されるトリの抗体は、家畜の血清から得ることが出来、或いはまたそれは好ましくはその卵から得ることが出来る。抗体は直接にそのまゝ投与されるか或いは薬学的に許容可能な液体或いは固体担体と組み合わせられる。最も普通には、非経口注射により投与される場合には、それは液体配合物として投与される。抗体はまた有機マトリックス材料中でマイクロ粒状形態で調製され、次いで直ちに対象に注射することもある。

抗体の投与は、哺乳動物の所与の病態に対して免疫学的に有効である量で行われる。例えば、所与の状態例えばヘビ或いはハチに咬まれた状態その他の昆虫或いは爬虫類に咬まれた状態に置かれた哺乳動物に対する受動的に投与されるトリ抗体の量を、当業者は容易に確認することが出来る。

な投与量のブースターの投与。

- 5) 卵黄或いは乳内の抗体水準の試験。
- 6) 免疫化状態の際のトリからの卵或いはウシからの乳の採集。

これらの各種工程についての具体的な説明は、下記の通りである。

工程1においては、任意の抗原或いは抗原の組み合わせを使用することが出来る。これらの抗原は細菌性、ウイルス性、細胞性或いはトリ或いはウシの免疫系が応答する任意のその他の物質であり得る。工程1における重要な点は、抗原が動物内に免疫感受性の状態を誘発する能力を有しなければならないということである。抗原は、感受性を引き起こす任意の方法により投与することが出来る。好ましくは、多価抗原が使用される。

工程2において、免疫化の好ましい方法は筋肉内注射である。しかしながら、静脈内注射、腹腔内注射、経口投与、直腸座薬などのその他の方法もその使用が感受性を誘発するのに十分である限り使用することが出来る。事実、免疫化の好ましい

このタイプの典型的な受動免疫化は、投与当り0.25mg/kg～1.00mg/kgである。治療の継続時間及び強度は、治療対象の特別の条件に応じて異なる。これらの条件としては、所与の感染症、病気或いは感染状態の実際の治療のみならず、カリエス抑制のような予防的治療も含まれる。感染の予防処置に対する典型的な投与量は、約0.25mg/kg～1.00mg/kg、好ましくは0.5mg/kg～0.75mg/kg、の範囲である。

対象に給与される卵物質を得るべき家畜は、(現在は耐性である)哺乳動物対象に投与される抗体(好ましくは、精製抗体)が得られる同一の家畜であつてもなくとも良い。

下記の操作は家畜或いはウシを免疫状態にもたすために使用される一例である。

- 1) 抗原選択。
- 2) 家畜或いはウシの第一次免疫化による感作。
- 3) 感作誘発を確認するためのトリの血清或いは卵或いはウシの血清の試験。
- 4) 抗体産生状態を誘発し、維持するための適当

方法は抗原性物質が生体劣化性及び生体相溶性マトリックス物質のマイクロ粒子内に導入され、トリ或いはウシ内に筋肉注射により投与される方法である。投与量は、通常は $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^{20}$ 細胞数、好ましくは $10^8 \sim 10^{10}$ 細胞数、最も好ましくは 2×10^8 細胞数、である。

工程3は、トリ或いはウシが抗原に対して感受性になつたかどうかを決定するためのものである。免疫学の分野の当業者には、感受性の試験のための多くの方法が知られている[「免疫学及び免疫化学における方法(Methods in Immunology and Immunochemistry)」, William, C.A., WM Academic Press, London Vol. 1～5 (1977) 参照]。これらの具体例としては、皮膚感受性試験、刺激性抗原に対する抗体の存在に対する血清試験及び宿主から抗原に対して応答する免疫細胞の能力と評価するための試験などが挙げられる。使用される試験の種類は、使用される抗原の性質に応じて異なることが多い。好ましい方法は、多数の物質種よりなる多価ワクチンを抗原と

して使用し、ワクチンによる対抗前後のトリ或いはウシの血清内の凝集抗体の存在を試験する方法である。ワクチンによる免疫化後の卵或いは乳抗体の出現は感受性を示すものであり、この時点において工程4に進むことが可能である。感受性を誘発するのに必要な最終投与量の抗原は、使用される抗原に応じて異なる。

工程4は、抗体産生状態の誘発及び維持を含むものである。トリ或いはウシが一度感作されたことが示されると、この状態は一定の時間間隔における適量の投与量の繰返されるブースター投与により誘発される。投与の間隔は、抗原の性質に応じて異なる。多価抗原に対しては、2週間のブースター間隔が最適である。ブースター投与は、免疫耐性の状態を誘発してはならない。これはトリ或いはウシを抗体産生状態から動物が抗体を産生することを終えてしまう抗体に対する免疫耐性の状態に移らせてしまうからである。

また、例えば異なった免疫化操作方法の組合せ、即ち一次免疫化に筋肉注射を、ブースター注射等

に静脈内注射を使用することも可能である。当業者により多くの異なった1)感作及び2)抗体産生状態を誘発する免疫化方法の組み合わせを使用することが可能である。

工程5には、食品生成物中の抗体濃度を決定する目的で動物が抗体産生状態にある間に免疫化動物からの食品生成物試料の試験が含まれる。抗体水準は、公知のイムノアッセイ及び酵素免疫技術により決定することが出来る。

工程6は、免疫化動物からの卵或いは乳の採集である。卵は本発明の給与段階で或いは本発明の投与段階における精製抗体の源として、使用することが出来る。

投与段階において投与される抗体がトリ或いはウシの血清から得られる場合には、公知の分離及び精製方法を利用することが出来る。

抗体の濾過による殺菌に引き続いて、対象哺乳動物は所与の病態に対して有効な治療を与えるに十分な時間にわたって前記方法により抗体が投与される。注射部位は、注射抗体に対して服れたり

その他の免疫反応の証拠を与えるべきではない。

本発明の好ましい実施態様においては、給与及び(又は)投与工程は組み合わされた物質を用いて行われる。例えば、給与は、所与の抗原(この抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られたもの)に対して高められた抗体力価を有する物質或いは物質の組成物を該抗原に対して免疫化されたウシの乳から得られた抗原に対して高められた抗体力価を有する物質と共に用いることにより行うことが出来る(高められた抗体力価を有する免疫乳の調製については、例えば米国特許3,128,230号及び米国特許3,376,198号各明細書参照)。この様に、前記のような物質を含む組成物もまた本発明に含まれる。

もう一つの好ましい実施態様においては、哺乳動物には精製抗体の組み合わせを投与することが出来る。ここでいう組合せとは、一つの成分が所与の抗原に対して免疫化された家禽から得られた抗体であり、他の成分が所与の抗原に対して免疫化されたウシから得られた抗体であるものである。

最も好ましいのは、免疫学的に有効量の抗体の組み合わせを含んでなるものであつて、その第一の抗体が所与の抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られてできれば実質的に精製されたものであり、第二の抗体が該抗原に対して免疫化されたウシの乳から得られてできれば実質的に精製されたものであるもの、である。

以上説明した組成物は、治療的に利用することも出来、或いは予備混合された食品生成物の形態で利用することが出来る。一つの実施態様において、脱水された免疫乳及び脱水された免疫卵物質を混合し、給餌段階において、抗体が精製されている場合には投与段階に^{おいては}、使用することが出来る。

以上、一般的な本発明の説明のあとで、以下具体例は本発明を更に詳細に説明するものである。これらは例示を目的としてのみ示されるものであり、特に断りのない限り、本発明を何等制限するものではない。

例 I

ニワトリを免疫化させて卵中に抗体を産生するのに使用される方法は、哺乳動物を免疫化させるために用いられる方法と同様であり、当業者には良く知られている。一般的操作方法は、ワクチンを注射により胸部筋肉に投与することである。好ましい方法は、1ccの塩水中の1~5mgの抗原を投与する方法である。この注射を毎週1回宛4週間繰り返す。最大抗体力価は第4回目の注射後に起こる。抗体力価は、1~2週間の間隔で抗原のブースター注射を与えることにより維持することが出来る。

具体例によりワクチンを表Iに掲げた細菌種から調製した。

表 I

ATCC 番号

1.	Steep. mutans	27351
2.	" "	27352
3.	" "	27607
4.	" "	27947
5.	" "	31341
6.	" "	31377

1. ATCCの細菌培養物を15mlの培地で戻し、37℃で一晩インキュベートした。
2. 一旦良好な生育が得られると、ほぼ半量の細菌懸濁液を用いて1リットルのブラスを接種し、これを37℃でインキュベートした。残りの懸濁液は無菌グリセロールチューブに移し、-20℃において6ヶ月まで貯蔵した。
3. リットル培養液中に良好な生育が見られた後に、細菌細胞を14,000×において懸濁液を20分間遠心分離させて、培地を除去して収獲した。このペレットを無菌の塩水中に再懸濁させ、3回遠心分離にかけて培地を細胞から洗浄した。3回目の塩水のスピンの後にペレットを少量の2

回懸濁水中に再懸濁させた。

4. 培地不含細菌懸濁液を80°の塩水浴中のガラスフラスコ中に一晩置いて加熱殺菌した。少量の加熱殺菌した細菌をブラス培養液中に接種して生育能力を決定した。細菌はワクチンに使用するためには殺さなければならない。
5. 加熱殺菌した細菌を凍結乾燥し、無菌のバイアル中において-20℃で貯蔵した。
6. 混合した細菌菌株を使用して、10匹の成熟した雌トリを免疫させた。この免疫方法は、次の通りであった：350mgの乾燥細菌を1リットルの無菌塩水と混合して 2.2×10^6 細菌細胞/ml塩水の濃度にした（660nmにおける1.0光学密度の読み）。この混合液の1mlをニワトリの胸に2週毎に注射した。

免疫化されたニワトリから集められた卵を次の工程により加工して、卵黄から抗体を得た。

1. 卵黄を白身から分離し、黄体膜を切り開き、除去した。200mlの黄身を測り、800mlのTris緩衝塩水(TBS)で稀釈した。TBS:Trisヒド

ロキシメチルアミノメタン緩衝塩水：0.14 M NaCl, 0.01 M Tris HCl, pH 7.4, 0.1% NaN₃。

2. この溶液を室温においてゆつくり20分間撹拌した（全ての操作は室温において行つた）。
3. この黄身の懸濁液を14,000×において20分で30分間遠心分離した。沈澱は廃棄した。
4. TBS中の10%デキストランサルファート(w/v) (Sigma)の100mlを上澄液に添加し、5分間ゆつくり撹拌した。
5. 1 M CaCl₂ 250mlを添加し、溶液を30分間インキュベートして過剰のデキストランサルファートの沈澱を起させた。
6. 懸濁液を遠心分離にかけ、上澄液をとつておいた。沈澱を2000mlのTBSで洗浄して、それに運ばれた蛋白質を抽出した。これらの二つの上澄液を次いで一緒に集めた。
7. これらの上澄液をイオン交換水に対して十分に透析させて塩を除去し、凍結乾燥させた。免疫前及び後からの卵から得られた卵抗体を酵素結合イムノアッセイ法を用いて細菌ワクチンに

対して反応させ、S. ミュータンス (S. mutans) 細菌と特異的に反応するニワトリ卵中の抗体の存在を求めた。

結果を表 II に示す。

ニワトリ 番号	表 II													
	免疫化前 S. mutans 菌株番号							免疫化後 S. mutans 菌株番号						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
3	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
4	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
6	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
7	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
9	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

この実験からの結果は、哺乳動物に弱毒をおこす因子即ち S. mutans に対して免疫化されたニワトリはこれらの因子に特異的に反応する抗体を含有し、また非免疫化ニワトリから得られた卵は同

一の抗体に欠けることを示すものである。

S. mutans に対する抗体の力価は、非免疫卵からの背景力価よりも少なくとも 100% 大きい。

例 2

表 I に掲げた細菌菌株に対して免疫された雌フリの卵の黄身から得られたトリ抗体を、筋肉注射によりウサギに投与した。生理食塩水 1 cc に溶解した雌フリ黄身 IgG 5 mg を 5 匹のウサギの後足に注射した。第 2 回目の注射は、14 日後に繰り返された。処理前及び処理後のウサギから血液試料を集めた。ウサギ試料からの血清を Outcherlony ダル拡散法を用いて雌フリの卵黄 IgG と反応させ、雌フリ黄身 IgG に対するウサギの抗体の存在の試験を行つた。雌フリ黄身 IgG に対するウサギ抗体の存在は、この処理がニワトリ IgG に対するウサギ免疫系の免疫学的感作を引き起こしたことの免疫学的証拠を与えるものであつた。

この実験からの結果を表 III に示す。治療前 (0 週) 及び治療後 (1, 2, 3 週) のニワトリ IgG に対するウサギ血清中の抗体の存在 (+) 或いは不存

在 (0)。

ウサギ番号	表 III			
	0 週目	第 1 週目	第 2 週目	第 3 週目
1	0	0	+	+
2	0	0	+	+
3	0	+	+	+
4	0	0	+	+
5	0	+	+	+

処理前には 5 匹のウサギのいずれもそれらの血液中にニワトリ IgG に対する抗体を有しなかつた。処理後 2 週間目までには 5 匹のウサギはそれらの血液の中にニワトリ IgG に対して高い抗体力価を有した。この実験は、免疫化されたニワトリから得られたニワトリ IgG によるウサギの処理がウサギの免疫感作を引き起こすことを示している。陽性の力価を有する 5 匹のウサギを引き続き 5 mg の抗体の動脈注射により処理したところ、アナフィラキシー反応を引き起こし、5 匹のウサギの全部が死んでしまった。

この実験は、従つて、鳥類から得られた抗体が

繰り返し注射により哺乳類に投与された際にアレルギー反応を引き起こすという当今の知識を確認したものである。

この実験の次の段階は、本発明の基礎を提示するものである。上記同一のウサギ実験を繰返した。しかしながら、この実験においては、免疫化されたニワトリの卵から得られた同一投与量の抗体の注射前、5 匹のウサギには免疫化されたニワトリから得られた 1 つの卵を 50 cc の水に溶解して 30 日間連続して与えた。この実験結果を表 IV に示す。

処理前 (0 週目) 及び処理後 (1, 2, 3 週目) の卵 IgG に対するウサギ血清中における抗体の存在 (+) 或いは不存 (0)。

ウサギ番号	表 IV			
	0 週目	1 週目	2 週目	3 週目
1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0

5匹のウサギのいずれも、処理前或いは処理後のいずれにおいてもニフトリの質身抗体に対してそれらの血液中に抗体を有しなかつた。更に、これらのウサギ中においては免疫化されたニフトリから得られたニフトリ抗体が膀胱内注射により投与された場合にも、何等の悪い影響も見られなかつた。これらの実験により、ウサギによる免疫離ドリンの経口的消滅は免疫離ドリンIgGに対してウサギを耐性にするとの結論が導かれた。

例 3

本実験の目的は、哺乳動物のトリ抗体による治療は実際に有用な目的に役立つ得るということを示すものである。これを示すために、ラットを哺乳動物の例として選び、ニフトリを鳥類抗体産生者として選んだ。Heck等の米国特許4,324,782号明細書にはラットのモデルを用いて哺乳動物起源(畜牛乳)の抗体のラットのストレプトコッカス・ミュータンス(*Streptococcus mutans*)感染症を抑制する有用性が示されている。本実験の目的は、ニフトリ抗体が同一の病気を治療するウレ

抗体と同一の有用性を有することを示すものである。

本実験にはストレプトコッカス・ミュータンス^②一つのセロタイプ株及び三つの群からなる無菌のラット(10匹/群)を使用した。第1群には標準的う食原性食飼305号を与え、第2群には食飼305号+免疫ニフトリIgGを与え、第3群には305号食飼+非免疫ニフトリIgGを与えた。この実験において、乳離れしたラット(生後20日)を実験分離器に移し、毒性のS.ミュータンスを感染させ、食飼を無制限に与えた。動物は実験から45日の年齢(全時間25日)において取り出した。実験の終了時にラットを分離器から取り出し、体重を測定した。大顎の臼歯を除去し、無菌的に脱肉した。それらを直ちにリン酸緩衝塩水(PBS)を含有するチューブに入れ超音波処理をし、稀釈し、血液中及びミナス・サリバリウス(*Minis Salivarius*)上において二重にプレート化した(三つの異なる稀釈率)。この実験からの結果を表Vに示す。

表 V

平均5食点数^a

群*	類				み				近				平均体重	S. Mutans CFU
	E	Ds	Dm	Dx	E	Ds	Dm	Dx	E	Ds	Dm	Dx		
1	15.8 ± 0.8	13.2 ± 0.9	9.0 ± 0.8	5.8 ± 0.6	18.8 ± 1.1	14.4 ± 0.7	8.6 ± 0.5	4.2 ± 0.6	7.0 ± 0.4	4.8 ± 0.6	0.0	0.0	116 ± 4	1.1 × 10 ⁷
2	12.8 ± 0.9	10.4 ± 0.7	5.0 ± 0.3	2.2 ± 0.7	15.6 ± 0.7	11.8 ± 0.5	4.0 ± 0.4	1.8 ± 0.2	7.4 ± 0.4	4.4 ± 1.3	0.0	0.0	117 ± 5	6.2 × 10 ⁶
3	15.0 ± 1.0	11.4 ± 0.8	7.2 ± 0.5	4.2 ± 0.7	16.4 ± 0.7	12.4 ± 0.2	4.8 ± 0.4	2.0 ± 0.3	7.4 ± 0.6	5.2 ± 0.6	0.0	0.0	107 ± 5	8.6 × 10 ⁶
4	7.8 ± 0.7	5.8 ± 0.8	3.1 ± 0.3	1.2 ± 0.5	13.4 ± 0.6	10.4 ± 0.4	2.8 ± 0.4	1.2 ± 0.6	4.6 ± 0.8	2.4 ± 0.6	0.0	0.0	106 ± 4	1.4 × 10 ⁶

* 食飼305号中における1%試験乳全てのラットはS.ミュータンスMT 8148(セロタイプC)で感染。

^a Keyesの方法により評価(Keyes, P.J.; Dental Research, Vol. 37, 1077頁1958年)。

E=エナメル, Ds=僅かに象牙質, Dm=中程度に象牙質, Dx=広範囲に象牙質

8. ミュータンスに対してニワトリIgGを含有する飼料は飼料う食点数及び飼料プラーク点数(CFU)のいずれにおいても減少を引き起こした。正常のニワトリ卵から得られたトリ抗体(ニワトリIgG)はう食及び(又は)プラーク点数に及ぼす効果はより小さかった。この実験はストレプトコッカス・ミュータンスに対して免疫化されたニワトリから得られる卵のウサギモデルにおける飼料のう食及びプラークの減少に対する用途を示すものである。

例 4

畜牛の乳及び血清から通常の生化学的方法により得られた精製IgGをミリポア濾過により殺菌した。牛乳を飲む履歴を有する3人の人に3~4ヶ月間に亘って筋肉内に5~100mgのIgGの総量の投与量で殺菌IgG抗体を注射した。注射後注射部位のいずれも腫脹その他の免疫反応の証拠の徴候を示さなかった。更に、治療された個人から採取された血清試料は血清病気の証拠を与えなかった。

に90日間牛乳を与えた。

第2群のウサギには、ウシIgGで免疫化前に牛乳を与えなかった。

表 VI

群番号	ウサギ	血清中に存在するウシIgG に対する抗体
I	A	なし
	B	なし
	C	なし
	D	試験結果不確定(ボーダーライン)
II	A	あり
	B	あり
	C	あり
	D	あり

例 6

本発明のもう一つの実施態様は、本例において明らかにされる。哺乳動物における鳥類の抗体の効果は、哺乳動物起源の抗体の同時投与により改良することができる。即ち、例えば、畜牛の乳抗体と組み合わせて鳥類の抗体を使用すると、鳥類の抗体単独の使用よりも哺乳動物における感染症

例 5

哺乳類に抗体耐性の状態を発生させるために、4匹のウサギに牛乳+食物及び水を90日間与えた。残りの4匹のウサギには食物及び水のみを与えた。牛乳を与えた各ウサギには毎日300mlの水を与えた。全てのウサギに、実験の開始後90日間筋肉内注射により5mg投与量の精製牛乳IgGを与えた。血液試料を各ウサギの耳静脈からウシIgGの注射後1、2及び3週間後に採取した。ウシIgG抗体に対するウサギの免疫反応をOuchterlonyゲル注入技術を用いて試験したところ、ウサギを免疫化するために使用したウシIgG抗原に対するウサギの血清中の抗体の反応を示した。牛乳を受け取らなかった全ての4匹のウサギから得られた血清には、ウシIgGに対する抗体を示す陽性の反応が見られた。他方、4匹の牛乳を与えたウサギから得られた血清は、陰性であった。

ウシIgGに対する抗体に対する免疫学的

試験(Ouchterlonyゲル注入)

第1群のウサギには、ウシIgGで免疫化する前

の治療により有効である。

1リットルの免疫乳中の抗体考慮の通常の範囲は0.05~1gのIgGである。卵を1リットルの乳へ添加すると、全抗体考慮値が1~2gに増大する。

例3で説明した実験を、畜牛の乳抗体をニワトリ卵抗体と組合せ、畜牛のみの抗体或いは卵抗体のみの場合と等価の投与量の下で繰返した。結果は表Vの第3群に示されている。

ニワトリと畜牛抗体との組み合わせは、畜牛或いは卵抗体単独のいずれよりもより大きな影響をもたらした。

以上、本発明を十分に説明したが、ここに開示される本発明の精神或いは範囲から逸れることなく多くの変更及び修正がなされ得ることは当業者に明らかであろう。

出願人代理人 隆 設 清

第1頁の続き

⑤Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

G 01 N 33/531

7906-2G

優先権主張 ⑥1984年6月19日⑥米国(US)⑥622130

⑦発明者 リー、アール、ベック アメリカ合衆国アラバマ州、バーミンガム、ダソモア、ブレイス、2550

手続補正書(方式)

昭和60年6月27日

特許庁長官 志賀 学 殿

1 事件の表示

昭和60年 特許願 第22742号

2 発明の名称

トリないしウシ抗体を用いた哺乳動物の受動免疫化
方法及びそのための組成物

3 補正をする者

事件との関係 特許出願人

ストール、リサーチ、エンド、ディベロプメント、
コーポレーション

4 代理人

東京都千代田区丸の内三丁目2番3号
電話東京(211)2321 大代表

4230 弁理士 猪 股

5 補正命令の日付

昭和60年5月8日

(発送日 昭和60年5月28日)

6 補正の対象

願書の出願人の欄、委任状、明細書

7 補正の内容

(1) 出願人の代表者名を記載した願書を別紙の
通り補正する。

(2) 委任状とその誤文を補正する。

(3) 明細書第6頁第12~15行

「(LeBacq~(1967))」を「(ルバック・フェ
ルハイデン等 (LeBacq-Verhoyden et al): イミ
ュノロジー (Immunology), 27, 683 (1974) 及
びネッスル、ジー、エー等 (Nestle, G.A. et al):
ジャーナル・オブ・メデシンス (J. Med.),
130, 1337 (1967))」と補正する。

(4) 明細書第6頁第16~18行

「(Poison~(1980))」を「(ポルソン・エー
等 (Poison, A. et al): イミュノロジカル・コミュ
ニケーションズ (Immunological Communications)
9, 495-514 (1980))」と補正する。

(5) 明細書第7頁第1~3行

「(Fertel~(1981))」を「(フアーテル・ア
ール等 (Fertel, R. et al.): バイオケミカル・
アンド・バイオフィジカル・リサーチ・コミュニ

ケーションズ (Biochemical and Biophysical Research Communications), 102, 1028-1033 (1981))」と補正する。

(6) 明細書第7頁第5～7行

「(Jencenius ～ (1981))」を「(ジェンセニウス等 (Jencenius et al.) : ジャーナル・オブ・イミュノロジカル・メソッズ (Journal of Immunological Methods), 46, 363-68(1981))」と補正する。

(7) 明細書第7頁第9～10行

「(Polson ～ (1980))」を「(ボルソン・エー等 (Polson, A. et al.) : イミュノロジカル・コミュニケーションズ (Immunological communications), 9, 475-493 (1980))」と補正する。

(8) 明細書第8頁第1～2行

「(Polson ～ (1980))」を「(ボルソン (Polson) : イミュノロジカル・コミュニケーションズ (Immunological communications), 475-493 (1980))」と補正する。

(9) 明細書第8頁第12～13行

「(Jencenius ～ 46)」を「(ジェンセニウス等 (Jencenius et al.) : ジャーナル・オブ・イミュノロジカル・メソッズ (Journal of Immunological Methods), 46)」と補正する。

(10) 明細書第8頁最下行～第9頁第1行

「(Cambell ～ (1964))」を「(キャンベル等 (Cambell et al.) : ジャーナル・オブ・イミューン・ミルク (Jurnal of Immune Milk), 1: 3 (1964))」と補正する。

(11) 明細書第30頁第12行～14行

「(William ～ (1977) 参照)」を「ウィリアム・シー・エー. (William, C.A.). ダブリューエム・アカデミック・プレス・ロンドン (WH Academic Press, London), Vol. 1～5 (1977) 参照)」と補正する。

備考

「明細書第6～9, 7～21, 30頁について微生物、外国名の物質、外国語による学術文献等はその日本名の次にかっこをしてその原語を記載

した明細書を提出せよ。」との御指令ですが明細書第10～21頁にはこれに該当する箇所が見あたりません。なお、第17～21頁において各種細菌抗原名の記載があるので、「7～21頁」とはこれらを御指摘と推察されますが、これらの名前は出願時に日本名の次にかっこをしてその言語を記載してありますので不適正なものとは思われません。

よろしくお取り計らい下さいますようお願い致します。

平成 3.10. 2 発行

特許法第17条の2の規定による補正の掲載

平 3.10. 2発行

昭和 60 年特許願第 22742 号(特開昭
60-248628 号, 昭和 60 年 12 月 9 日
発行 公開特許公報 60-2487 号掲載)につ
いては特許法第17条の2の規定による補正があっ
たので下記のとおり掲載する。 3 (2)

Int. Cl. ⁵	識別 記号	庁内整理番号
A61K 39/395		8829-4C
39/40		8829-4C
C12Q 1/00		6807-4B
G01N 33/531		7906-2J

明 細 書

1. 発明の名称

トリの抗体を用いた哺乳動物の受動免疫化
方法およびそのための組成物

2. 特許請求の範囲

1. 家禽の卵に由来する高められた力価の抗
体を含んでなる食物であって、その高められた力
価が、哺乳動物による該食物の繰返し摂取で抗体
に対する耐性を誘発するのに充分なものである、
免疫治療に有用な食物。

2. 上記抗体が、哺乳動物内に状態を引き起
こしうる少なくとも一つの抗原に対応し、該抗原
に対して上記家禽が免疫化されている、請求項1
に記載の食物。

3. 食物が、上記抗体を含有する卵を含むも
のあるいはその卵である、請求項1あるいは2に
記載の食物。

4. ウシ科動物の乳に由来する高められた力

手 続 補 正 書

平成 3 年 8 月 14 日

特許庁長官 植 松 敏 郎



1 事件の表示

昭和 60 年特許願第 22742 号

2 発明の名称

トリの抗体を用いた哺乳動物の受動免疫化
方法およびそのための組成物

3 補正をする者

事件との関係 特許出願人

ストール、リサーチ、エンド、
ディベロプメント、コーポレーション

4 代 理 人 (郵便番号 100)

東京都千代田区丸の内三丁目2番3号
[電話東京 (3211)2321 大代表]

0428 井理士 佐 藤 一



5 補正命令の日付

発送日 平成 年 月 日

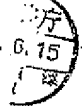
6 補正により する発明の点

7 補正の対象

明細書の全文

8 補正の内容

- 1) 発明の名称を「トリの抗体を用いた哺乳動物の受動免疫化方法およびそのための組成物」と補正する。
- 2) 明細書の全文を別紙の通り補正する。 3.



価の抗体を含み、好ましくは高められた水準の抗
体を有する乳を含む、ただし、該抗体は哺乳動物
内に状態を引き起こしうる少なくとも一つの抗原
に選択的に対応するものであり、その抗原に対し
てウシ科動物が免疫化されている、請求項1〜3
のいずれかに記載の食物。

5. 含有された抗体に対して実質的な水準の
耐性を誘発するのに有用である、請求項1〜4の
いずれかに記載の食物。

6. ワクチンが、好ましい非経口的投与に適
合して、かつ、家禽、好ましくは家禽からの血清
あるいは食品、特に卵、からの抗体(ただし、該
抗体は哺乳動物に状態を引き起こしうる少なくと
も一つの抗原に対応するものであり、その抗原に
対して家禽が免疫化されている)、およびそれら
のための適切な担体を含んでなり、しかも、ワク
チンが、請求項1〜4のいずれかに記載の食物の
繰返し摂取後の実質的な水準の耐性に高めた哺乳
動物に有用なものである、請求項2に定義の抗原
用の受動ワクチン。

7. ウシ科動物からの抗体であって、ウシ科動物が免疫化されている請求項2に定義の抗原に対する抗体を含んでなり、しかも、抗体が、好ましくはウシ科動物の血清あるいは食品、特に乳、から得られたものであって、請求項4に記載の食物の繰返し摂取後の実質的な水準の耐性に高めた哺乳動物に有用である、請求項6に記載のワクチン

8. 順次投与する二つの成分からなる組み合わせ物であって、該成分が下記a)およびb)である、抗原により生じた状態に対する受動免疫化に有用な組み合わせ物。

a) 哺乳動物中の抗体に対する相当な水準の耐性を誘発するように繰返し摂取するための、請求項1~4のいずれかに記載の食物、

b) 上記a)成分の後で投与されるための、請求項6または食物が請求項4で定義したものであるときは請求項7記載のワクチン。

9. 抗体あるいは抗体類が、下記の抗原類の一つまたはそれ以上に対応する、請求項1~8の

ベルグ (*Salmonella heidelberg*)、サルモネラ・パラティフィ (*Salmonella paratyphi*)、エルシニア・エンテロコリチカ (*Yersinia enterocolitica*)、スタフィロコックス・アウレウス (*Staphylococcus aureus*)、スタフィロコックス・エピデルミディス (*Staphylococcus epidermidis*)、ストレプトコックス・ピオゲネス (*Streptococcus pyogenes*)、アエロバクター・アエロゲネス (*Aerobacter aerogenes*)、エシエリキア・コーリ (*Escherichia coli*)、サルモネラ・エンテリチティディス (*Salmonella enteritidis*)、クレブジェラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)、サルモネラ・ティフィムリウム (*Salmonella typhimurium*)、ヘモフィルス・インフルエンザエ (*Haemophilus influenzae*)、ストレプトコックス・ビリダンス (*Streptococcus viridans*)、プロテウス・ブルガリス (*Proteus vulgaris*)、シゲラ・ディセンテリス (*Shigella dysenteriae*)、ストレプトコックス B群 (*Streptococcus* Group B)、デ

いづれかに記載の食物、ワクチンあるいは組み合わせ物。

シェードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*)、シェードモナス・マルトフィア (*Pseudomonas maltophilia*)、ストレプトコックス・エキシミリ (*Streptococcus equisilii*)、ストレプトコックス・ディスガラクティエ (*Streptococcus dysgalactiae*)、ストレプトコックス・ウベリス (*Streptococcus uberis*)、ストレプトコックス・ボビス (*Streptococcus bovis*)、パスツウレラ・ムルトシダ (*Pasteurella multocida*)、パスツウレラ・ヘモリチガ (*Pasteurella haemolytica*)、モラクセラ・ボビス (*Moraxella bovis*)、アクチノバチルス・リグニエレス (*Actinobacillus lignieresii*)、コリネバクテリウム・レナール (*Corynebacterium renale*)、フソバクテリウム・ネクロホルム (*Fusobacterium necrophorum*)、バチルス・セルス (*Bacillus cereus*)、サルモネラ・ダブリン (*Salmonella dublin*)、サルモネラ・ハイデル

イプロコックス・ニューモニエ (*Diplococcus pneumoniae*)、ストレプトコックス・ミュータンス (*Streptococcus mutans*)、コリネバクテリウム (*Corynebacterium*)、アクネタイプ1および3 (*Acne*, Types 1 and 3) 等、ネisseria、ゴノリ (*Neisseria gonorrhea*)、ミコバクテリウム・チューバキュロシス (*Mycobacterium tuberculosis*)、ヘモフィルス・バギナリス (*Haemophilus vaginalis*)、b群ストレプトコックス・エコリ (*Group b Streptococcus* *ecoli*)、ミクロプラズマ・ホミニス (*Mycoplasma hominis*)、ヘモフィルス・ディクレイ (*Haemophilus dyscreyi*)、グラヌローマ・イングイナール (*Granuloma inguinale*)、リンフォパチア・ベネレウム (*Lymphopathia venerea*)、トレポネーマ・パリダム (*Treponema pallidum*)、ブラセラ・アボルツ (*Brucella abortus*)、ブルセラ・メリテンシス (*Brucella melitensis*)、ブルセラ・スイス (*Brucella suis*)、ブラセラ・カニス (*Brucella canis*)、カンビロバクター

・フェタス (*Campylobacter fetus*)、カンピロ
バクター・フェタス・インテスティナリス

(*Campylobacter fetus intestinalis*)、レプト
スピラ・ボモナ (*Leptospira pomona*)、リステ
リア・モノシトゲネス (*Listeria monocytogenes*)、
ブルセラ・オビス (*Brucella ovis*)、クラミジ
ア・プシタチ (*Chlamydia psittaci*)、アクチ
ノバチルス・エクーリ (*Actinobacillus equuli*)、
サルモネラ・アボルトス・オビス (*Salmonella*
abortus ovis)、サルモネラ・アボルトス・エク
イ (*Salmonella abortus equi*)、コリネバクテリ
ウム・エクイ (*Corynebacterium equi*)、コリネ
バクテリウム・ピオゲネス (*Corynebacterium*
pyogenes)、アクチノバチルス・セミニス

(*Actinobacillus seminis*)、ミコプラズマ・ボ
ビゲニタリウム (*Mycoplasma bovis*)、
クロストリジウム・テタニ (*Clostridium tetani*)

10. 上記抗体あるいは抗体類が、Ig G、
Ig MあるいはIg A、好ましくはIg Gである、

は、自然に生ずることがあり、また、ワクチ
ンの形態での抗原の意図的な投与により宿主を抗
原に曝すこともできる。動物は、抗原性物質をワ
クチン投与すると、対象動物が抗体を産生する免
疫応答が生ずる。この過程は、一般的に、抗原に
曝された宿主種の能動免疫化と称される。能動免
疫化により任意の動物種から産生される抗体は、
その動物種に対する同種 (ホモログス) の抗体で
ある。

一つの種の産生された抗体を用いて他の種にお
ける対応抗原の影響を中和しうることは、良く知
られている。一つの種からの個体が、他の個体
において産生された抗体から免疫保護を受け取る
ときに受動免疫化が生ずる。この過程は、供与体
から受領体への抗体の移動を必要とする。供与体
と受領体とが同一種 (スペシース) である場合には、
抗体は同種 (ホモログス) である。他方、供与体
と受領体が異種である場合には、抗体は異種 (ヘ
テロログス) であるといわれる。

受動免疫化は、病気の予防および治療のための

請求項 1-9 のいずれかに記載の食物、ワクチン
あるいは組み合わせ物。

3. 発明の詳細な説明

(発明の背景)

<発明の分野>

本発明は、免疫化された家畜種から得られた異
種抗体による哺乳動物の受動免疫化方法に関する。

<背景技術の説明>

Ig A、Ig MおよびIg Gなどの各種抗体ク
ラッセよりなる血清グロブリン画分を使用して対応
する抗原に對抗し、それによって抗原の有害な影
響を中和することができることが、免疫学の分野
の当業者によく知られている。各種抗原としては、
発癌性、細菌性およびウイルス性の種、植物およ
び動物起源の生体制御因子、毒素 (トキシン) お
よび毒物などが含まれる。

通常、動物の免疫系は、外来抗原に曝されると、
抗原の生体制御的および (または) 有害な影響を
中和する。ある哺乳動物の免疫系の外来抗原への

有効な方法を提供するものであることが知られて
いるが、ヒトの医学における受動免疫化の使用に
は制約がある。同種のヒト抗体配合物が、一般的
に利用可能でないからである。他方、異種抗体類
の使用は危険であるので、供与体動物種において
産生された異種抗体によるヒトの受動免疫化は、
緊急の状況においてのみ使用される。ヒトの治療
において異種抗体が用いられる状況の具体例とし
ては、ウマにおいて産生されるヘビ毒およびハチ
毒の抗血清の使用などが挙げられる。これらの抗
体は、ヘビおよびハチの毒素を中和し、それによ
りその有害な影響を除去および減少させる。

異種抗体によるヒトの受動免疫化は、非ヒト起
源の抗体がヒトの免疫系に対して外来のものであ
るので安全でない。受領者の免疫系を外来供与者
の抗体蛋白質へ暴露することは、受領者中に外来
抗原に対する免疫反応を生じさせる。この免疫応
答は、アナフィラキシーショックおよび死に到る
ことのある血清の病気を引き起こす。

従って、異種抗体は、知られていて、しかも有

益な用途があるにも拘らず、この治療方法は安全の考慮から一般的には使用されていない。

ニワトリ、シチメンチョウおよびアヒルなどの家禽類が、トリの病気を引き起こす因子並びに他の抗原に対する抗体を血液および卵中に産出することは公知である。例えば、ルバック・フネルハイデン等 [LeBacq-Verheyden et al.] : Immunology, 27, 683 (1974) およびネッスル, G. A. 等 [Nestle, G.A. et al.] : J. Med., 130, 1387 (1967) では、ニワトリの免疫グロブリンが定量的に分析されている。ポルソン等 [Polson, A. et al.] : Immunological Communications, 9, 495-514 (1980) では、幾つかの蛋白質および蛋白質の自然混合物に対して雌ドリを免疫化させ、卵の黄身中に Ig Y 抗体を検出している。ファーテル等 [Fertei, R. et al.] : Biochemical and Biophysical Research Communications, 102, 1028-1033 (1981) では、雌ドリをプロスタグランジン類に対して免疫化させ、卵黄中に抗体を検出した。ジェンセニウス等 [Jencenius et al.] :

している。すなわち、この病気にに対して超免疫化された雌ドリから得られた卵黄 Ig Y をヒヨコに注射することによる方法である。この示唆は、推論的であることに加えて、仮に異なった個体であっても、同一種から得られた抗体による一つの種の同種の受動免疫化のみを取扱うにすぎない。

上記ジェンセニウスなど [Jencenius et al.] : Journal of Immunological Methods, 46 には、67 頁に「多量のきちんと包括された抗体を与えることにより、腸内蛋白質分解酵素による抗体の劣化を最小にする手段が採られるならば、適当な免疫化されたニワトリからの卵が、何等かの腸内感染症の有用かつ無害の治療となると推論することも可能である」と述べられている。これらの著者は、キャンベルなど [Campbell et al.] : Journal of Immune Milk, 1, 3 (1984) の研究を引用して、免疫化された動物からの乳により感染症を治療する考えとの類似性を示している。このジェンセニウスなど (Jencenius et al.) の示唆は、自ら認めるように、推論である。更に、抗体

Journal of Immunological Methods, 46, 353-358 (1981) は免疫診断用に卵黄 Ig G を単離する方法が示されている。ポルソン等 [Polson, A. et al.] : Immunological Communications, 9, 475-493 (1980) には、各種植物ウイルスで免疫化された雌ドリの卵黄から単離された抗体が記載されている。

しかしながら、これら文献の全ては、各種抗原に対して産生された家禽の免疫グロブリンの研究にのみ関するものであるが、これらの抗原は、その全てが必ずしも哺乳動物の病気をあるいは病態に特異的に影響を及ぼすあるいは引き起こすものではない。前記のポルソン (同論文 1980) あるいは上記ジェンセニウスの論文は、診断方法における手段として、哺乳動物の抗体の代りにトリの抗体の使用を示唆している。ポルソン [Polson, A.] : Immunological Communications, 475-493 (1980) は 491 頁において、新たに孵化したニワトリをそれらの母ドリが産み出さなかった病気にに対して受動的保護を与える可能性があることを示唆

が、腸内蛋白質分解酵素により劣化するであろうという警告も伴っている。

英国特許 2057451 号明細書には、卵の卵黄の分離により行った、雌ニワトリ類の免疫化が開示されている。得られた免疫学の製剤は、診断の目的に、あるいは、適切な場合には病気の治療の目的に、使用することができる。ヒトに対する使用も示唆されているが、異種抗体の使用に関連する通常の問題が起きないであろうと推測する理由はない。

トリと哺乳類とは、系統発生上は離れているので、ニワトリおよびその他の家禽を哺乳動物の病気をあるいは病態に対する抗体を産生するものとして選択することは非論理的であった。哺乳動物類の治療に意図された免疫治療生成物に対する抗体の明らかな選択は、密接な生態発生の関連性を有する他の哺乳動物であった。例えば、ニワトリの蛋白質はヒトの免疫系に対して外來性であるので、ヒトの患者を非経口投与配合剤により投与されるニワトリの抗体で治療することは論理的ではなく、

また繰返し使用によりアレルギー反応を引き起こすであろう。事実、鳥の卵に由来する抗体を哺乳動物における病態を予防あるいは治療するのに使用したという何等の証拠も科学文献にはない。

〔発明の概要〕

本発明は、血清病あるいはアナフィラキシーショックを避ける条件下に異種の低抗原性蛋白質配合物を投与する方法を提供するものである。本発明は、また、血清病あるいはアナフィラキシーショックを避ける条件下において免疫化された家禽の血清および（または）食品から得られた異種の低抗原性 IgG 配合物を投与する方法を提供するものである。

なお、以下において「ウシ科動物」に言及した場合は、それは、トリの代わりにではなく、トリに加えてウシ科動物を使用してもよいという態様を示すものである。

本発明は、従って、抗原により引き起こされた状態に対して哺乳動物を異種受動免疫化する方法からなるものである。この方法は、抗原に対して

法も開示されている。その方法は、ある抗原性物質に対して免疫化された家禽の卵から得られた精製した異種抗体を非経口的に注射することよりなる。そこで、哺乳動物は、そのような家禽の卵を消費する履歴を有するものである。

本発明は、卵抗体の投与が非経口的のみならず、如何なる適当な経路であっても良い点において、米国特許出願第 577, 804 号に開示される概念を包含し、かつ拡張するものである。

更に一つの態様において、本発明は、また、ある抗原により引き起こされた状態に対して哺乳動物を異種受動免疫化する方法に関する。この方法は、下記 a) および b) からなるものである。

a) その哺乳動物に、その抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られたその抗原に対する高められた抗体力価を有する物質を、哺乳動物がその抗体に対して相当な耐性を生ずるまで与える。

b) その哺乳動物に、その抗原に対して免疫化された家禽から得られた免疫学的有効量の抗体を投与する。

免疫化された家禽から得られた免疫学的有効量の抗体を哺乳動物に投与することからなるものである。ここで、哺乳動物は、その家禽の卵から得られた物質を食物源として消費する履歴を有するところから抗体に対して耐性を有するものである。

本発明は、1984年2月7日米国特許商標庁に「受動免疫化用異種蛋白質抗体配合物」に対してベックおよびストールにより出願された米国特許出願第 577, 804 号に開示および特許請求されている発明の更なる発展に関するものである。この米国特許出願の開示内容は、ここに準用するものとする。

米国特許出願第 577, 804 号においては、哺乳動物の受動免疫化方法が特許請求されているが、この方法は、ある抗原性物質に対して免疫化されたウシ科動物の乳から得られた精製した抗体を非経口的に注射することよりなるものである。ここで、該哺乳動物は、そのような家畜化されたウシ科動物の乳の消費の履歴を有するものである。この米国特許出願には、哺乳動物の受動免疫化方

このように、この実施態様においては、家禽から得られた抗体を哺乳動物に投与するに前に哺乳動物には抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られた物質が与えられる。

他の一つの実施態様においては、本発明は、ある抗原に対して引き起こされた状態に対する哺乳動物の異種受動免疫化方法に関する。ここで、この方法は下記 a) および b) からなるものである。

a) その哺乳動物に、その抗原に対して免疫化されたウシ科動物の乳から得られたその抗原に対して高められた抗体力価を有する物質を、哺乳動物が抗体に対して相当の耐性を生ずるまで与える。

b) その哺乳動物に、非経口注射によりその抗原に対して免疫化された家畜化ウシ科動物から得られた免疫学的有効量の抗体を投与する。

また、本発明は、各種投与方法、各種条件ならびにそれらにおいて有用な各種組成物に関するものである。

例えば、好ましい実施態様において、本発明は、

下記 a) および b) を含んでなる組成物に関する。

a) 所与の哺乳動物の抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られた抗原に対して高められた抗体力価を有する物質。

b) その抗原に対して免疫化された家畜化ウシ科動物の乳から得られた抗原に対する高められた抗体力価を有する物質。

本発明の他の一つの態様においては、下記の a) および b) を含んでなる組成物が提供される。

a) 所与の哺乳動物の抗原に対して免疫化された家禽の卵から精製された抗体。 b) その抗原に対して免疫化されたウシ科動物の乳から精製された抗体。

本発明は、下記 a) および b) を含んでなる組成物をも提供するものである。 a) 非経口用担体。

b) ある抗原に対して免疫化された家禽の卵から精製された抗体であって、抗体を投与した対象中に血清病あるいはアナフィラキシーショックを生じさせないもの。

性は、異種の鳥の種からの抗体類を含有する物質を予め与えられた個々の哺乳動物に生ずるものである。異種の家禽からの抗体を含有する物質を与えられなかった個体は、引き続き投与される家禽の抗体に対して耐性を欠く。

このように、本発明の本質的特徴は、各種抗原に対して特異的に免疫化された家禽の血清あるいは卵生成物から得られる異種抗体を経口、腹腔内あるいは非経口（すなわち、静脈内あるいは筋肉内）投与などにより血清病あるいはアナフィラキシー反応を引き起こすことなく哺乳動物類に受動的に投与することができるということである。

本発明のもう一つの本質的特徴は、各種抗原に対して特異的に免疫化された家畜化ウシ科動物の血清あるいは食品から得られた異種抗体を非経口投与により、血清病あるいはアナフィラキシー反応を引き起こすことなく、哺乳動物に受動的に投与することができるということである。

上記のように、異種抗体の投与に必要な条件である免疫系耐性は、自然に起きるものではなく、

更に本発明は、下記 a) および b) を含んでなる組成物を提供するものである。 a) 非経口用担体。

b) ある抗原物質に対して免疫化されたウシ科動物の血清あるいは食品から得られる抗体であって、その抗体を投与した対象中に血清病あるいはアナフィラキシーショックを生じさせないもの。

<好ましい実施態様の説明>

ある動物の免疫系の外来蛋白質に反応できないということは、免疫学的耐性として知られた状態のことである。さらに、ある種の哺乳動物は、他の哺乳動物種を含む各種動物種からの抗体に対して耐性を欠くことも免疫学の分野の当業者によく知られている。従って、外来種から得られた異種抗体は、哺乳動物の治療に安全に使用することができないことが明らかである。本発明の発見は、この一般的に了解された異種免疫学の見解に対する例外である。ある哺乳動物の免疫系が、家禽の血清あるいは卵生成物に見出される異種抗体に対して耐性となり得ることが見出された。この耐

トリの抗体を含有する物質を与えることにより哺乳動物内で時間をかけて作り上げなければならない。

如何なる哺乳動物も本発明の方法により治療することができる。これらには、ウサギ、畜牛、ウマ、ヤギ、ヒツジおよびその他の齕蹄において使用される種などの家畜化哺乳動物の種が挙げられる。非家畜化哺乳動物、例えばサル、もまた治療することができる。最後に、本発明は、ヒトの受動異種免疫化にも適用可能である。

任意の抗原あるいは抗原の組み合わせを使用することができる。抗原は、細菌性、ウイルス性あるいは細胞性のものでも、また、家禽あるいは家畜化ウシ科動物の免疫系統が応答し、その家禽あるいはウシ科動物中に免疫感度の状態を誘発する任意のその他の物質、である得る。これらの抗原は、哺乳動物の種に種々の状態、例えば微生物あるいはウイルスが誘発する感染症、毒性状態などを引き起こすものが好ましい。

細菌の抗原類の適当な具体的例示として下記の

ものを挙げるができる。

シュードモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*)、シュードモナス・マルトフィイア (*Pseudomonas maltophilia*)、ストレプトコックス・エキシミリ (*Streptococcus equisimilis*)、ストレプトコックス・ディスガラクティエ (*Streptococcus dysgalactiae*)、ストレプトコックス・ウベリス (*Streptococcus uberis*)、ストレプトコックス・ボビス (*Streptococcus bovis*)、パスツウレラ・ムルトシダ (*Pasteurella multocida*)、パスツウレラ・ヘモリチカ (*Pasteurella haemolytica*)、モラクセラ・ボビス (*Moraxella bovis*)、アクチノバチルス・リグニエレンシ (*Actinobacillus lignieresii*)、コリネバクテリウム・レナーレ (*Corynebacterium renale*)、フソバクテリウム・ネクロホルム (*Fusobacterium necrophorum*)、バチルス・セルス (*Bacillus cereus*)、サルモネラ・ダブリン (*Salmonella dublin*)、サルモネラ・ハイデルベルグ (*Salmonella heidelberg*)、サルモネラ

pneumoniae)、ストレプトコックス・ミュータンス (*Streptococcus mutans*)、コリネバクテリウム (*Corynebacterium*)、アクネタイプ1および3 (*Acne*, Types 1 and 3) 等、ネisseria、ゴノリ (*Neisseria gonorrhoea*)、ミコバクテリウム・チューバキューロシス (*Mycobacterium tuberculosis*)、ヘモフィルス・バギナリス (*Haemophilus vaginalis*)、b群ストレプトコックス・エコリ (*Group b Streptococcus coli*)、ミクロプラズマ・ホミニス (*Mycoplasma hominis*)、ヘモフィルス・ディクレイイ (*Haemophilus dycreyi*)、グラヌローマ・イングイナーレ (*Granuloma inguinale*)、リンパノパチア・ベネレウム (*Lymphopathia venerea*)、トレポネーマ・パリダム (*Treponema pallidum*)、ブラセラ・アボルトゥス (*Brucella abortus*)、ブルセラ・メリテンシス (*Brucella melitensis*)、ブルセラ・スイス (*Brucella suis*)、ブラセラ・カニス (*Brucella canis*)、カンピロバクター・フェタス (*Campylobacter fetus*)、カンピロ

・パラティフィ (*Salmonella paratyphi*)、エルシニア・エンテロコリチカ (*Yersinia enterocolitica*)、スタフィロコックス・アウレウス (*Staphylococcus aureus*)、スタフィロコックス・エピデルミディス (*Staphylococcus epidermidis*)、ストレプトコックス・ピオゲネス (*Streptococcus pyogenes*)、アエロバクター・アエロゲネス (*Aerobacter aerogenes*)、エシエリキア・コーリ (*Escherichia coli*)、サルモネラ・エンテリティディス (*Salmonella enteritidis*)、クレブジェラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)、サルモネラ・ティフィムリウム (*Salmonella typhimurium*)、ヘモフィルス・インフルエンザエ (*Haemophilus influenzae*)、ストレプトコックス・ビリダンス (*Streptococcus viridans*)、プロテウス・ブルガリス (*Proteus vulgaris*)、シゲラ・ディセンテリエ (*Shigella dysenteriae*)、ストレプトコックス B群 (*Streptococcus Group B*)、ディプロコックス・ニューモニエ (*Diplococcus*

・バクター・フェタス・インテスティナリス (*Campylobacter fetus intestinalis*)、レプトスピラ・ボモナ (*Leptospira pomona*)、リステリア・モノシトゲネス (*Listeria monocytogenes*)、ブルセラ・オビス (*Brucella ovis*)、クラミジア・ブレンタチ (*Chlamydia psittaci*)、アクチノバチルス・エクーリ (*Actinobacillus equuli*)、サルモネラ・アボルトゥス・オビス (*Salmonella abortus ovis*)、サルモネラ・アボルトゥス・エクイ (*Salmonella abortus equi*)、コリネバクテリウム・エクイ (*Corynebacterium equi*)、コリネバクテリウム・ピオゲネス (*Corynebacterium pyogenes*)、アクチノバチルス・セミニス (*Actinobacillus seminis*)、ミコプラズマ・ボビゲニタリウム (*Mycoplasma bovis genitalis*)、クロストリジウム・テタニ (*Clostridium tetani*) など。

適当なウイルスの抗原の具体例としては、下記

エキネ・ヘルペス・ウイルス (*Equine herpes*

virus)、エキネ・アルテリティス・ウイルス (Equine arteritis virus)、IBR-IBPV ウイルス、BVD-MD ウイルス、ヘルペス・ウイルス (Herpes virus) (フモニス (humonis) タイプ 1 および 2) が挙げられる。

典型的なポリペプチド類は、受動免疫化が有用である哺乳動物に影響を及ぼす蛋白質である。それらには生体制御因子、ホルモン、酵素、ヘビ毒、ハチ毒、毒素およびその他の昆虫、および爬虫類の毒などが挙げられる。

哺乳動物内にトリあるいはウシ科動物の抗体蛋白質に対する耐性を発生させるためには、抗体に対して免疫化された家禽あるいは家畜化ウシ科動物の食品から得られた抗原に対する実質的な耐性誘発性の抗体力価を有する物質を哺乳動物が抗体に対する実質的な耐性を有するようになるまで与える。通常、これは少なくとも、約 2 週間～数ヶ月の期間に基いて消費されなければならない卵物質あるいは乳を含有する餌を与えることにより達成される。比較的若い動物あるいはヒトに対して

耐性の時間は、約 10～14 日程程度の短時間であり得る。比較的年老いた動物およびヒトにおいては、耐性を獲得するための最低時間は、数ヶ月になることがある。好ましい実施態様において、物質内の抗体力価は、家禽の予備免疫化によりその通常の水準を越えて高められる。

哺乳動物の免疫系の外来抗体に対する耐性は、家禽あるいはウシ科動物の精製した抗体を繰返し静脈内あるいは筋肉内に注射した際に、そのような卵あるいは乳を消費する対象内において誘発したアナフィラキシーショックの血毒症がないことにより示される。耐性が生じたことの安全な表示は、トリあるいはウシ科動物の抗体の投与量を徐々に増大させることである。耐性が欠けるならば、注射の箇所に宿主内で免疫反応が伴う。これが起こる場合には、治療は中止されるべきである。投与が経口的に行われる場合には、耐性がないと胃腸の苦痛を引き起こす。

哺乳動物に与えられるトリの物質は、通常の卵あるいは所与の抗原に対して高められた力価を有

するものであってもよい。その物質は、全卵、あるいはその部分、例えば殆んどのトリの抗体類が集中する傾向がある卵黄、であってよい。更に、その物質は、その物質に存在するトリの抗体が、その免疫学的効果を失わないような条件下、より具体的にはその中のトリの抗体が変性されないような条件下、で与えられるべきである。すなわち、卵が、哺乳動物の対象に与えられる場合には、蛋白質が変性された条件下にあるべきでない。

殆んどのトリの卵には、家禽に影響を及ぼす自然に発生する抗原類を有する宿主に対する抗体が含まれていることが知られている。本発明においては、そのような卵を哺乳動物に与えて耐性を誘発することができる。他方、哺乳動物に与えられる卵中の抗体力価は、家禽の卵に通常存在する抗体の力価よりも高いものであってもよい。そのような場合に、抗体は、殆んどの場合において、哺乳動物にとっては特異的であるが、トリの種には特異的ではない状態を引き起こす抗原と免疫学的に反応する性質を持つ。非免疫化家禽の卵質に

自然に存在する抗体は、哺乳類の種に病態を引き起こす抗原に対して特異性を有しない。しかし、それらは、免疫耐性を誘発するのには役立つものである。

哺乳動物に与えられるウシ科動物の物質は、通常の乳あるいは所与の抗原に対して高められた力価を有するものであってもよい。乳は、その物質内に存在するウシ科動物の抗体がその免疫学的効果を失っていない条件により、具体的にはその中のウシ科動物の抗体が変性していない条件下で、与えられるべきである。このように、乳が哺乳動物の対象に与えられる場合には、乳は蛋白質が変性された条件下にあるべきではない。

本発明の明細書および特許請求の範囲に用いられる「高められた力価」とは、抗原に対するトリの抗体力価が、同一抗原に対して通常のトリの抗体のバックグラウンド水準よりも少なくとも 100% 高いときのそのトリの抗体力価を包含することを意味するものである。

卵の源として役立つ家禽としては、ニワト

リ (chickens)、シチメンチウ、アヒル、ガチウなどが含まれ、最も好ましいのはニワトリである。

抗体の望ましい源であるウシ科の動物としては、ウシ属が挙げられるが、最も好ましくは畜牛、ヒツジおよびヤギが挙げられるが、最も好ましいのは畜牛 (cows) である。

耐性が一度哺乳動物内に達成されると、その哺乳動物は、所与の抗原に対する免疫反応性を有するトリまたはウシ科動物の抗体を投与する準備が整う。トリの抗体の投与は、各種経路のいずれであってもよいが、しかし、好ましくは経口投与あるいは非経口注射、例えば静脈内、腹腔内あるいは筋肉内注射、がよい。抗体の経口投与は、口および胃腸管の病気を治療するために有効に使用することもできる。ウシ科動物の抗体による好ましい免疫化方法は、ある病態に対して有効な治療を与えるに十分な時間の筋肉内あるいは静脈内注射によるものである。抗体は、直接与えられるかあるいは通常の薬学的に許可可能な液体あるいは

個体担体と組み合わされて投与される。

最も普通には、異種抗体は液体配合物として非経口注射により投与される。

卵消費の結果として対象内に予め発生した免疫耐性は、トリあるいはウシ科動物の抗体を使用する受動免疫化を安全かつ有効にする。それらの抗体は、沈殿、抽出、クロマトグラフィー、分別などの公知の手段により精製したものであるのが好ましい。「精製した」とは、実質的にトリあるいはウシ科動物起源のその他の（おそらくは免疫原性の）蛋白質あるいは非蛋白質成分がない任意のトリあるいはウシ科動物の抗体を包含するものである。そのような成分としては、例えば、抗体、細胞、細胞断片、膜断片、脂質類、核酸、細胞器官などが挙げられるが、それ等の蛋白質に限定されるものではない。

耐性発生後に哺乳動物に投与されるトリの抗体は、家禽の血清から、あるいは、それは好ましくは家禽の卵から、得ることができる。抗体は、そのまま直接に投与するか、あるいは薬学的に許容

可能な液体あるいは個体の担体と組み合わせる。最も普通には、非経口注射により投与される場合には、液体配合物として投与される。抗体は、有機マトリックス材料中でミクロ粒状形態に凝集して、次いで直接に対象に注射することもできる。

抗体の投与は、哺乳動物の所与の病態に対して免疫学的に有効である量で行われる。例えば、所与の状態、例えばヘビ、ハチあるいはその他の昆虫あるいは爬虫類に咬まれた状態、に冒された哺乳動物に対して受動的に投与するトリの抗体の量を、当業者は容易に確認することができる。このタイプの典型的な受動免疫化は、投与当り 0. 25 mg/kg ~ 1. 00 mg/kg である。治療の継続時間および強度は、治療対象の特別の条件に応じて異なる。これらの条件としては、所与の感染症、病状あるいは毒性状態の実際の治療のみならず、食欲抑制のような予防的治療も含まれる。感染の予防処置に対する典型的な投与量は、約 0. 25 mg/kg ~ 1. 00 mg/kg、好ましくは 0. 5 mg/kg ~ 0. 75 mg/kg、の範囲である。

対象に給与する卵物質を得る家禽は、（現在は耐性である）哺乳動物の対象に投与される抗体（好ましくは、精製抗体）を得るのと同じ家禽の固体であってもよく、なくとも良い。

下記の操作は、家禽あるいはウシ科動物に免疫状態をもたらすために使用される操作の一例である。

- 1) 抗原選択。
- 2) 家禽あるいはウシ科動物の第一次免疫化による感作。
- 3) 感作誘発を確認するためのその家禽の血清あるいは卵、またはそのウシ科動物の血清の試験。
- 4) 抗体産生状態を誘発し、維持するための適当な投与量のブースターの投与。
- 5) 卵黄あるいは乳中の抗体水準の試験。
- 6) 免疫化状態の際のその家禽の卵あるいはそのウシ科動物の乳の採集。

これら各工程を下記に具体的に説明する。

工程 1 においては、任意の抗原あるいは抗原の組み合わせを使用することができる。それらの抗

原は、細菌性、ウイルス性、細胞性または鳥あるいはウシ科動物の免疫系が応答する任意のその他の物質であり得る。工程1における重要な点は、抗原が、動物内に免疫感受性の状態を誘発する能力を有しなければならないということである。抗原は、感受性を引き起こす任意の方法により投与することができる。好ましくは、多価抗原が使用される。

工程2において、免疫化の好ましい方法は、筋肉内注射である。しかしながら、静脈内注射、腹腔内注射、経口投与、直腸座薬などのその他の方法もその使用が感受性を誘発するに十分である限り使用しうる。事実、免疫化の好ましい方法は、抗原性物質を生体劣化性および生体相溶性のマトリックス物質のマイクロ粒子内に導入して、家禽あるいはウシ科動物に筋肉注射により投与する方法である。投与量は、通常 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^{20}$ 細胞数、好ましくは $10^8 \sim 10^{18}$ 細胞数、最も好ましくは 2×10^8 細胞数、である。

工程3は、家禽あるいはウシ科動物が、抗原に

異なる。

工程4は、抗体産生状態の誘発および維持を含むものである。家禽あるいはウシ科動物が一度感作されたことを示すと、この状態は、一定時間の間隔で適切な投与量のブースターの繰返し投与により誘発される。投与の間隔は、抗原の性質に応じて異なる。多種類の抗原に対しては、2週間のブースター間隔が最適である。ブースター投与は、免疫耐性の状態を誘発してはならない。これは家禽あるいはウシ科動物を抗体産生状態から抗体を産生することを終えてしまう状態である免疫耐性の状態に移らせてしまうからである。

また、例えば、異なる免疫化操作方法の組合せ、すなわち、一次免疫化には筋肉注射を使用し、ブースター注射等には静脈内注射を使用することも可能である。当業者により多くの異なる1)感作および2)抗体産生状態を誘発する免疫化方法の組み合わせを使用することが可能である。

工程5には、食品中の抗体水準を決定する目的で、動物が抗体産生状態にある間に免疫化動物が

対して感受性になったかどうかを決定するためのものである。免疫学の分野の当業者には、感受性の試験のための多くの方法が知られている〔「免疫学および免疫化学における方法 (Methods in Immunology and Immunochimistry)」、

William, C.A., W.H. Academic Press, London

Vol. 1~5 (1977) 参照〕。これらの具体例

としては、皮膚感受性試験、刺激性抗原に対する抗体の存在に対する血清試験および宿主から抗原に対して応答する免疫細胞の能力を評価するための試験などが挙げられる。使用される試験の種類は、使用される抗原の性質に応じて異なることが多い。好ましい方法は、多数の物質種よりなる多価ワクチンを抗原として使用し、ワクチンによる対抗前後の家禽あるいはウシ科動物の血清内の凝集抗体の存在を試験する方法である。ワクチンによる免疫化後の卵あるいは乳抗体の出現は感受性を示すものであり、この時点において工程4に進むことが可能である。感受性を誘発するのに必要な最終投与量の抗原は、使用される抗原に応じて

らの食品の試料を試験することが含まれる。抗体水準は、公知のイムノアッセイおよび酵素関連技術により決定することができる。

工程6は、免疫化された動物からの卵あるいは乳の採集である。卵は、本発明の給与段階で、あるいは本発明の投与段階における精製抗体の源として、使用することができる。

投与段階において投与される抗体が、鳥あるいはウシ科動物の血清から得られる場合には、公知の単離および精製方法を利用することができる。

汚濁による抗体の殺菌に引き続いて、哺乳動物の対象は、所与の病態に対して有効な治療を与えるに十分な時間にわたって前記方法により抗体を投与する。注射部位は、注射抗体に対して服れたりその他の免疫反応の証拠を与えるべきではない。

本発明の好ましい実施態様においては、給与および(または)投与工程が、組み合わされた物質を使用して行われる。例えば、給与は、所与の抗原(この抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られたもの)に対して高められた抗体力価を有

する物質あるいは物質の組成物をその所与の抗原に対して免疫化されたウシ科動物の乳から得られた抗原に対して高められた抗体力価を有する物質と共に用いることにより行なうことができる（高められた抗体力価を有する免疫乳の調製については、例えば米国特許 3, 128, 230 号および米国特許 3, 376, 198 号各明細書参照）。このように、前記のような物質を含む組成物もまた本発明に含まれる。

もう一つの好ましい実施態様においては、精製抗体の組み合わせを哺乳動物に投与することができる。ここでいう組合せとは、一つの成分が投与の抗原に対して免疫化された家畜から得られた抗体であり、他の成分が所与の抗原に対して免疫化されたウシ科動物から得られた抗体であるものである。

最も好ましいのは、免疫学的に有効量の抗体類の組み合わせを含んでなるものであって、その第一の抗体が所与の抗原に対して免疫化された家畜の乳から得られ、できれば実質的に精製されたも

のであり、第二の抗体がその抗原に対して免疫化された家畜化ウシ科動物の乳から得られて、できれば実質的に精製されたものである。

以上説明した組成物は、治療に利用することもでき、あるいは予備混合された食品の形態で利用することができる。一つの実施態様において、脱水された免疫乳および脱水された免疫卵物質を混合し、給餌段階において、あるいは抗体が精製されている場合には投与段階において、使用することができる。

以上、一般的な本発明の説明のあとで、以下具体例は、本発明を更に詳細に説明するものである。これらは、例示を目的としてのみ示すものであり、特に断りのない限り、本発明を何等制限するものではない。

例 1

ニワトリを免疫化させて卵中に抗体を産生するのに使用される方法は、哺乳動物を免疫化させるために使用される方法と同様であって、当業者に良く知られている。一般的操作方法は、ワクチン

を注射により胸部筋肉に投与することである。好ましい方法は、1 CC の塩水中の 1~5 mg の抗原を投与する方法である。この注射を毎週 1 回 4 週間繰り返した。最大抗体力価は第 4 回目の注射後に起こる。抗体力価は、1~2 週間の間隔で抗原のブースター注射を与えることにより維持することができる。

具体例によりワクチンを表 1 に挙げた細菌種から調製した。

表 1

	ATCC 番号
1. Strep. mutans	27351
2. " "	27352
3. " "	27607
4. " "	27947
5. " "	31341
6. " "	31377
1. ATCC (American Type Culture Collection) の細菌	

培養物を 15 ミリリットルの倍地で戻し、37℃で一晩インキュベートした。

2. 一旦良好な生育が得られると、ほぼ細菌の懸濁液の半量を用いて 1 リットルのブロスに接種し、これを 37℃でインキュベートした。残りの懸濁液は無菌のグリセロールチューブに移し、-20℃において 6 ヶ月まで貯蔵した。

3. リットル培養液中に良好な生育が見られた後に、懸濁液を 14,000×で 20 分間遠心分離し、倍地を除去して、細菌細胞を採取した。このペレットを無菌の塩水中に再懸濁し、3 回遠心分離にかけて倍地を細胞から洗浄した。3 回目の塩水のスピンの後にペレットを少量の 2 回遠心した水に再懸濁した。

4. 倍地不含細菌の懸濁液を 80℃の温水浴中のガラスフラスコ中に一晩置いて加熱殺菌した。少量の加熱殺菌した細菌をブロス培養液中に接種して生育能力を決定した。ワクチンに使用するには細菌を殺さなければならない。

5. 加熱殺菌した細菌を凍結乾燥し、無菌の小瓶

中において-20℃で貯蔵した。

6. 成長した10羽の雌のニワトリを免疫化するのに混合した細菌の菌株を使用した。免疫化方法は、次の通りであった。350mgの乾燥細菌を1リットルの無菌塩水と混合して 2.2×10^8 細菌細胞/ミリリットル塩水の濃度にした(660nmにおける1.0光学密度の読み)。この混合液の1ミリリットルをニワトリの胸に2週毎に注射した。

免疫化されたニワトリから集められた卵を次の工程により加工して、卵黄から抗体を得た。

1. 卵黄を白身から分離し、黄体膜を切り開き、除去した。200ミリリットルの卵黄を測り、800ミリリットルのTris緩衝塩水(TBS)で希釈した。TBS: Trisヒドロキシメチルアミノメタン緩衝塩水: 0.14M NaCl, 0.01M TrisHCl, pH 7.4, 0.1% NaN₃。
2. この溶液を室温においてゆっくり20分間攪拌した(全ての操作は室温で行った)。
3. この卵黄の懸濁液を14,000×において

20℃で30分間遠心分離した。沈殿は廃棄した。

4. TBS中の10%デキストランサルフェート(v/v) (Sigma)の100ミリリットルを上澄液に添加し、5分間ゆっくり攪拌した。

5. 1モルCaCl₂ 250ミリリットルを添加し、溶液を30分間インキュベートして過剰のデキストランサルフェートの沈殿を起させた。

6. 懸濁液を遠心分離し、上澄液をとって置いた。沈殿を2000ミリリットルのTBSで洗浄して、それに運ばれた蛋白質を抽出した。これらの二つの上澄液を次いで一緒に集めた。

7. これらの上澄液をイオン交換水に対して十分に透析して塩を除去して、凍結乾燥した。

免疫化前および後からの卵から得られた卵抗体を酵素結合免疫試験法を使用して細菌性のワクチンに対して反応させ、S. ミュータンス細菌と特異的に反応するニワトリ卵中の抗体の存在を求めた。

結果を表IIに示す。

表 II

ニワトリ 番号	免疫化前 S.mutans菌株番号							免疫化後 S.mutans菌株番号						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
3	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
4	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
6	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
7	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
8	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
9	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
10	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+

この実験からの結果は、哺乳動物に病気を起す因子、すなわちS. ミュータンスに対して免疫化されたニワトリは、これらの因子に特異的に反応する抗体を含有し、また非免疫化ニワトリから得られた卵は同一の抗体に欠けることを示す。S. ミュータンスに対する抗体の力価は、非免疫卵か

らの背景力価よりも少なくとも100%大きい。

例 2

表Iに挙げた細菌の菌株に対して免疫された雌ニワトリの卵の卵黄から得られたトリの抗体を、筋肉注射によりウサギに投与した。生理食塩水1ミリリットルに溶解した雌ニワトリの卵黄1g G 5mgを5羽のウサギの後足に注射した。第2回目の注射を14日後に繰り返した。処置前および処置後のウサギから血液試料を集めた。ウサギ試料からの血清をOuchterlony ゲル拡散法を使用して雌ニワトリの卵黄1g Gと反応させ、雌ニワトリ卵黄1g Gに対するウサギの抗体の存在の試験を行った。雌ニワトリ卵黄1g Gに対するウサギ抗体の存在は、この処置がニワトリ1g Gに対するウサギ免疫系の免疫学的感作を引き起こしたことの免疫学的証拠を与えるものであった。

この実験の結果を表IIIに示す。治療前(0週)および治療後(1、2、3週)のニワトリ1g Gに対するウサギ血清中の抗体の存在(+)あるいは不存在(0)を示す。

平成 3.10. 2 発行

表 III

ウサギ 番号	0週目	第1週目	第2週目	第3週目
-----------	-----	------	------	------

1	0	0	+	+
2	0	0	+	+
3	0	+	+	+
4	0	0	+	+
5	0	+	+	+

処置前には、5羽のウサギのいずれもが、それらの血液中にニワトリ I g G に対する抗体を有しなかった。処置後2週間目までには、5羽のウサギは、それらの血液中にニワトリ I g G に対して高い抗体力価を有した。この実験は、免疫化されたニワトリから得られたニワトリ I g G によるウサギの処理がウサギの免疫感作を引き起こすことを示している。陽性の力価を有する5羽のウサギに引き続き5mgの抗体の静脈注射による処置をしたところ、アナフィラキシー反応を引き起こし、

表 IV

ウサギ番号	0週目	1週目	2週目	3週目
-------	-----	-----	-----	-----

1	0	0	0	0
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0

5羽のウサギのいずれもが、処置前あるいは処置後のいずれにおいてもニワトリの卵黄抗体に対してそれらの血液中に抗体を有しなかった。更に、これらのウサギ中においては免疫化されたニワトリから得られたニワトリ抗体を静脈内注射により投与した場合にも、それらウサギには何等の悪い影響もなかった。これらの実験により、ウサギによる免疫離ニワトリ卵の経口的消費が、免疫離ニワトリ I g G に対してウサギを耐性にするとの結論が導かれた。

例 3

本実験の目的は、トリの種の抗体による哺乳動物の治療が、実際に有用な目的に役立ち得るとい

5羽のウサギの全部が死んでしまった。

この実験は、このように、トリの種から得られた抗体が、繰り返し注射により哺乳類に投与されると、アレルギー反応を引き起こすという当今の知識を確認したものである。

この実験の次の段階は、本発明の基礎を提示するものである。上記と同一のウサギ実験を繰返した。しかしながら、この実験においては、免疫化されたニワトリの卵から得られた同一成分の抗体の注射前に、5羽のウサギには免疫化されたニワトリから得られた1つの卵を500ccの水に溶解して30日間連続して与えた。この実験結果を表IVに示す。

処理前(0週目)および処理後(1、2、3週目)の卵 I g G に対するウサギ血清中における抗体の存在(+)あるいは不存在(0)を示す。

うことを証明することである。この証明のために、ラットを哺乳動物の種の例として選び、ニワトリをトリの種の抗体産生者の例として選んだ。Beck等の米国特許4, 324, 782号明細書には、ラットのモデルを使用した哺乳動物起源(畜牛乳)の抗体のラットのストレプトコックス・ミュータンス(*Streptococcus mutans*)感染症を抑制する有用性が示されている。本実験の目的は、ニワトリ卵抗体が、同一の病気を治療する畜牛抗体と同一の有用性を有することを証明することである。

本実験のために、ストレプトコックス・ミュータンスの一つのセロタイプ株および三つの群からなる無菌のラット(10匹/群)を使用した。第1群には標準的な食原性食餌305号を与え、第2群には食餌305号+免疫ニワトリ I g G を与え、第3群には305号食餌+非免疫ニワトリ I g G を与えた。この実験において、乳離したラット(生後20日)を実験分離器に移し、毒性のS. ミュータンスを感染させ、食餌を無制限に与

えた。動物は実験から45日の年齢（全時間25日）において取り出した。実験の終了時にラットを分離器から取り出し、体重を測定した。大顎の大臼歯を除去し、無菌的に脱肉した。それらを直ちにリン酸緩衝塩水（PBS）を含有するチューブに入れ超音波処理をし、希釈し、血液中およびミナス・サリバリウス（Mills Salivarius）上において二重にプレート化した（三つの異なる希釈率）。この実験の結果を表Vに示す。

表 V

平均歯食点数^a

群*	類				ミ				近 位				平均体重	S. Mutans CFU
	E	Ds	Dm	Dx	E	Ds	Dm	Dx	E	Ds	Dm	Dx		
1	15.8 ± 0.8	13.2 ± 0.9	9.0 ± 0.8	5.8 ± 0.6	18.8 ± 1.1	14.4 ± 0.7	8.6 ± 0.5	4.2 ± 0.6	7.0 ± 0.4	4.8 ± 0.6	0.0	0.0	116 ± 4	1.1 × 10 ⁷
2	12.8 ± 0.9	10.4 ± 0.7	5.0 ± 0.3	2.2 ± 0.7	15.6 ± 0.7	11.8 ± 0.5	4.0 ± 0.4	1.8 ± 0.2	7.4 ± 0.4	4.4 ± 1.3	0.0	0.0	117 ± 5	6.2 × 10 ⁶
3	15.0 ± 1.0	11.4 ± 0.8	7.2 ± 0.5	4.2 ± 0.7	16.4 ± 0.7	12.4 ± 0.2	4.8 ± 0.4	2.0 ± 0.3	7.4 ± 0.6	5.2 ± 0.6	0.0	0.0	107 ± 5	8.6 × 10 ⁶
4	7.8 ± 0.7	5.8 ± 0.8	3.1 ± 0.5	1.2 ± 0.5	13.4 ± 0.5	10.4 ± 0.4	2.8 ± 0.4	1.2 ± 0.6	4.6 ± 0.8	2.4 ± 0.6	0.0	0.0	106 ± 4	1.4 × 10 ⁶

* 食飼 305 号中における 1 % 試験乳全てのラットは S. ミュータンス MT 8148 (セロタイプ C) で感染。

^a Keyes の方法により評価 (Keyes, P.J.: Dental Research, Vol. 37, 1977 頁 1958 年)。

E = エナメル, Ds = 僅かに象牙質, Dm = 中程度に象牙質, Dx = 広範囲に象牙質

S. ミュータンスに対するニワトリ IgG 抗体を含有する食餌は、歯科う食点数および歯垢点数 (plaque scores) (CFU) のいずれにおいても減少を引き起こした。正常の雌ニワトリ卵から得られたトリ抗体 (ニワトリ IgG) は、う食および (または) 歯垢点数に及ぼす効果が、より小さかった。この実験は、ラットモデルにおける歯科のう食および歯垢の減少に対するストレプトコッカス・ミュータンスに対して免疫化されたニワトリから得られる卵の歯科う食および歯垢の減少に対する用途を示すものである。

例 4 (参考)

畜牛の乳および血清から通常の生化学的方法により得られた精製 IgG をミリオア膜過により殺菌した。牛乳を飲む履歴を有する 3 人の人に 3 ~ 4 ヶ月間に亘って筋肉内に 5 ~ 100 mg の IgG の範囲の投与量で殺菌 IgG 抗体を注射した。注射後注射部位のいずれも腫脹その他の免疫反応の証拠の徴候を示さなかった。更に、治療された個人から採取された血清試料は血清病気の証拠を

与えなかった。

例 5 (参考)

哺乳類に抗体耐性の状態を発生させるために、4 羽のウサギに牛乳 + 食物および水を 90 日間与えた。残りの 4 羽のウサギには食物および水のみを与えた。牛乳を与えた各ウサギには毎日 300 ml の水を与えた。全てのウサギに、実験の開始後 90 日間筋肉内注射により 5 mg 投与量の精製牛乳 IgG を与えた。血液試料を各ウサギの耳静脈からウシ科の IgG の注射後 1、2 および 3 週間後に採取した。ウシ科動物の IgG 抗体に対するウサギの免疫反応を Ouchterlony ゲル注入技術を用いて試験したところ、ウサギを免疫化するために使用したウシ科の IgG 抗原に対するウサギの血清中の抗体の反応を示した。牛乳を受け取らなかった全ての 4 匹のウサギから得られた血清には、ウシ科の IgG に対する抗体を示す陽性の反応が見られた。他方、牛乳を与えた 4 羽のウサギから得られた血清は、陰性であった。

ウシ IgG に対する抗体に対する免疫学的試験

(Ouchterlony ゲル注入)

第 1 群のウサギには、ウシ科動物の IgG で免疫化する前に 90 日間牛乳を与えた。第 2 群のウサギには、ウシ科動物の IgG で免疫化前に牛乳を与えなかった。

表 VI

群番号 ウサギ 血清中に存在するウシ科動物の IgG に対する抗体

I	A	なし
	B	なし
	C	なし
	D	試験結果不確定
(ボーダーライン)		
II	A	あり
	B	あり
	C	あり
	D	あり

例 6

本発明のもう一つの実施態様は、本例において明らかにされる。哺乳動物におけるトリの抗体の

効果は、哺乳動物起源の抗体の同時投与により改良することができる。すなわち、例えば、畜牛の乳抗体と組み合わせて鳥類の抗体を使用すると、トリの抗体単独の使用よりも哺乳動物における感染症の治療により有効である。1 リットルの免疫乳中の抗体考慮の通常範囲は 0.05 ~ 1 g の IgG である。卵を 1 リットルを添加すると、全抗体考慮値が 1 ~ 2 g に増大する。

例 3 で説明した実験を、畜牛の乳抗体を等量のニワトリ卵抗体と組合せ、卵抗体の場合のみの場合と等量の投与量 (すなわち、食餌 305 号 + 1 %) の下で繰り返した。結果は、前記の表 V の第 4 群に示されている。

ニワトリと畜牛抗体との組み合わせは、畜牛あるいは卵抗体単独のいずれよりもより大きな影響をもたらした。

以上、本発明を十分に説明したが、ここに開示される本発明の精神あるいは範囲から離れることなく多くの変更および修正がなされ得ることは当業者に明らかであろう。

そのような変更および修正は、典型的には、本発明を下記の通りに定義することができ、その一つまたは複数を反映させたものである。

(1) 抗原に対して免疫化されている家禽から得られた免疫学的有効量の抗体を哺乳動物（ただしその哺乳動物は家禽の卵から得られた物質を含む抗体の消費の履歴を有することによりその抗体に対して耐性があるものである）に投与することからなる、抗原により引き起こされた状態に対する哺乳動物の異種受動的免疫化方法（A）。

(2) 投与された抗体が、IgG、IgAまたはIgM抗体である、方法（A）。(3) 投与された抗体が、家禽の卵から得られた精製IgG抗体である、方法（A）。

(4) 受領体の哺乳動物が、10～14日から数ヶ月までに至る家禽から得られた食品生成物の毎

日の消費の履歴を有している、方法（A）。

(5) 投与が、経口のあるいは非経口的注射による、方法（A）。

(6) 抗原が、S. ミュータンス (S. mutans) である、方法（A）。

(7) 投与されている抗体が、実質的に精製されており、特に抗体が、家禽の卵から得られている、方法（A）。

(8) 下記a) およびb) の工程からなる、抗原により引き起こされた状態に対する哺乳動物の受動的免疫化方法（B）。

a) 該抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られた、抗原に対して高められた抗体力価を有する物質を、哺乳動物がその抗体に対する実質的な耐性を発生するまで哺乳動物に給与する工程、および

b) 該抗原に対して免疫化された家禽から得られた抗体の免疫学的有効量を哺乳動物に投与する工程。

(9) 工程b) で、全卵を哺乳動物に給与する、

方法（B）。

(10) 工程b) で、卵の卵黄を哺乳動物に給与する、方法（B）。

(11) 工程b) で、投与は注射による、方法（B）。

(12) 抗原に引き起こされた状態が「歯う蝕」である、方法（A）あるいは方法（B）。

(13) 抗原に引き起こされた状態が「歯垢」である、方法（A）あるいは方法（B）。

(14) 工程a) で、卵が、該抗原を含む多数の抗原類に対して高められた抗体力価を有している、方法（B）。

(15) 工程b) で、家禽が、工程a) で使用されたのと同じ個体である、方法（B）。

(16) 工程b) で、家禽が、工程a) で使用されたの異なる個体である、方法（B）。

(17) 哺乳動物が、非ヒト哺乳動物、特にウサギ、ウシ科動物、馬、ヤギ、羊およびサルからなる群から選ばれた哺乳動物、である、方法（A）あるいは方法（B）。

(18) 哺乳動物が、ヒトである、方法（B）。

(19) 抗原が、細菌種、細菌種の生成物、あるいは細菌種の組み合わせである、方法（A）あるいは方法（B）。

(20) 抗原が、ウイルス種、ウイルス種の生成物あるいはウイルス種の組み合わせである、方法（A）あるいは方法（B）。

(21) 抗原が、生体制御物質、特にホルモン、酵素あるいは免疫制御因子、である、方法（A）あるいは方法（B）。

(22) 抗原が、ポリペプチド、特にへび毒液の毒素（トキシン）あるいはハチ毒液の毒素（トキシン）、である、方法（A）あるいは方法（B）。

(23) 受動的免疫化が、予防的に行われる、方法（A）あるいは方法（B）。

(24) 受動的免疫化が、病状を緩和する (palliative) のに行われる、方法（A）あるいは方法（B）。

(25) 工程a) で、該物質を、該抗原に対して免疫化されたウシ科動物の乳から得られたその抗

原に対して高められた抗体力価を有する物質と共に哺乳動物に給与する、および（または）工程 b) で、該物質を、該抗原に対して免疫化されたウシ科動物の乳からの精製された抗体と共に哺乳動物に給与する、ならびに該抗体の組み合わせを免疫学的有効量で給与、特に注射により、する、方法（B）。

（26）工程 a) および工程 b) で、家禽が、ニワトリである、方法（B）。

（27）工程 b) で、抗体が、家禽の卵から精製されている、方法（B）。

（28）下記 a) および b) からなる、抗原により引き起こされた状態に対する哺乳動物の受動的異種免疫化に有効な組成物（C）。

a) 該抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られたその抗原に対して高められた抗体力価を有する物質、および

b) 該抗原に対して免疫化されたウシ科動物の乳から得られたその抗原に対して高められた抗体力価を有する物質。

非経口的に注射することからなる、ヒト、哺乳動物種の受動的免疫化方法（E）。

（34）抗体グロブリンが、Ig G、Ig A あるいは Ig M 抗体である、方法（E）。

（35）注射される抗体が、ウシ科動物の血清あるいは食品から得られて精製された Ig G 抗体である、方法（E）。

（36）受領体のヒトあるいは哺乳動物種が、10～14日から数か月までの範囲に至る家畜化ウシ科動物からの食品を消費する履歴を有する、方法（E）。

（37）抗原性物質に対して免疫化されているウシ科動物の血清あるいは食品から得られた異種の天然の高分子量のウシ科動物のγグロブリン Ig G 抗体を、食品源としてウシ科動物の乳を消費することの履歴を有している受領体のヒトあるいは哺乳動物種に非経口的に注射することからなる、異種抗体類によるヒトまたは哺乳動物種の受動的免疫化方法（F）。

（38）ウシ科動物のγグロブリン Ig G が、

（29）家禽がニワトリであり、ウシ科動物が畜牛であり、特に組成物（C）が、脱水状態の卵および乳由来の物質からなる、組成物（C）。

（30）下記 a) および b) の有効量の結合からなる、抗原により引き起こされた状態に対する哺乳動物の受動的異種免疫化に有効な組成物（D）。

a) 抗原に対して免疫化された家禽の卵から得られた精製された抗体、および

b) 抗原に対して免疫化されたウシ科動物から得られた精製された抗体。

（31）家禽がニワトリであり、ウシ科動物が畜牛である、組成物（D）。

（32）家禽の抗体が、その家禽の卵から精製されており、ウシ科動物の抗体が、そのウシ科動物の乳から精製されている、組成物（D）。

（33）抗原性物質に対して免疫化されているウシ科動物の血清あるいは食品生成物から得られて精製された異種の天然の高分子量の抗体グロブリンを該家畜化ウシ科動物からの食品の消費の履歴を有する受領体であるヒトあるいは哺乳動物種に

畜牛から得られている、方法（F）。

（39）抗原性物質が、下記の群から選ばれたものである、方法（F）。

シュエドモナス・アエルギノザ (*Pseudomonas aeruginosa*)、シュエドモナス・マルトフィア (*Pseudomonas maltophilia*)、ストレプトコックス・エキシミリ (*Streptococcus equisilii*)、ストレプトコックス・ディスガラクティス (*Streptococcus dysgalactiae*)、ストレプトコックス・ウベリス (*Streptococcus uberis*)、ストレプトコックス・ボビス (*Streptococcus bovis*)、パスツウレラ・ムルトシダ (*Pasteurella multocida*)、パスツウレラ・ヘモリチカ (*Pasteurella haemolytica*)、モラクセラ・ボビス (*Moraxella bovis*)、アクチノバチルス・リグニエレンシ

(*Actinobacillus lignieresii*)、コリネバクテリウム・レナーレ (*Corynebacterium renale*)、フソバクテリウム・ネクロホルム

(*Fusobacterium necrophorum*)、バチルス・セルス (*Bacillus cereus*)、サルモネラ・ダブリン

(*Salmonella dublin*)、サルモネラ・ハイデルベルグ (*Salmonella heidelberg*)、サルモネラ・パラティフィ (*Salmonella paratyphi*)、エルシニア・エンテロコリチカ (*Yersinia enterocolitica*)、スタフィロコックス・アウレウス (*Staphylococcus aureus*)、スタフィロコックス・エピデルミディス (*Staphylococcus epidermidis*)、ストレプトコックス・ピロゲネス (*Streptococcus pyogenes*)、アエロバクター・アエロゲネス (*Aerobacter aerogenes*)、エシエリキア・コーリ (*Escherichia coli*)、サクモネラ・エンテリチヂイス (*Salmonella enteritidis*)、クレブジェラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)、サルモネラ・ティフィムリウム (*Salmonella typhimurium*)、ヘモフィルス・インフルエンザエ (*Haemophilus influenzae*)、ストレプトコックス・ビリダンス (*Streptococcus viridans*)、プロテウス・ブルガリス (*Proteus vulgaris*)、シゲラ・ディセンテリエ (*Shigella dysenteriae*)、ストレプトコ

ックス B 群 (*Streptococcus* Group B)、ディプロコックス・ニューモニエ (*Diplococcus pneumoniae*)、ストレプトコックス・ミュータンス (*Streptococcus mutans*)、コリネバクテリウム (*Corynebacterium*)、アクネタイプ 1 および 2 (*Acne*, Types 1 and 2)、ネイセリア、ゴノリア (*Neisseria gonorrhea*)、ミコバクテリウム・チューバキュロシス (*Mycobacterium tuberculosis*)、ヘモフィルス・バギナリス (*Haemophilus vaginalis*)、b 群ストレプトコックス・エコリ (*Group b Streptococcus agalactiae*)、ミクロプラズマ・ホモニス (*Mycoplasma hominis*)、ヘモフィルス・ディクレイ (*Haemophilus dyscreyi*)、グラヌローマ・イングイナレ (*Granuloma inguinale*)、リンフォパチア・ベネレウム (*Lymphopathia venerea*)、トレポネーマ・パリダム (*Treponema pallidum*)、ブラセラ・アボルツス (*Brucella abortus*)、ブルセラ・メリテンシス (*Brucella melitensis*)、ブルセラ・スイス (*Brucella suis*)、ブラセラ

・カニス (*Brucella canis*)、カンピロバクター・フェクス (*Campylobacter fetus*)、インテスティナリス (*Intestinalis*)、レプトスピラ・ポモナ (*Leptospira pomona*)、リステリア・モノシトゲネス (*Listeria monocytogenes*)、ブルセラ・オビス (*Brucella ovis*)、クラミジア・プシタチ (*Chlamydia psittaci*)、アクチノバチルス・エクウ (*Actinobacillus equi*)、サルモネラ・アボルツス・オビス (*Salmonella abortus ovis*)、サルモネラ・アボリタス・エクイ (*Salmonella abortus equi*)、コリネバクテリウム・エクイ (*Corynebacterium equi*)、コリネバクテリウム・ピロゲネス (*Corynebacterium pyogenes*)、アクチノバチルス・セミニス (*Actinobacillus seminis*)、ミコプラズマ・ボビゲニタリウム (*Mycoplasma bovis genitalium*)、クロストリジウム・テタニ (*Clostridium tetani*)、特に抗原性物質が、これらの細菌の抗原類の少なくとも二つを含む、多価ワクチン。

(4 D) 受領体が、ヒトである、方法 (F)。

(4 I) ウシ科動物の I g G 抗体が、筋肉内注射あるいは静脈注射により投与される、方法 (F)。

(4 2) 非経口的に注射可能な賦形剤 (vehicle) 中の、抗原物質に対して免疫化されているウシ科動物の血清あるいは食品生成物から得られた、異種で高分子量の蛋白質抗体からなる組成物である、非経口投与用蛋白質抗体組成物 (G) (ただし、この抗体は、その抗体を投与した対象での血清病あるいはアナフィラキシーショックを生じないものである)。

(4 3) 抗体が、免疫化されているウシ科動物の血清あるいは乳から得られており、特にその抗体が I g G 抗体である、組成物 (G)。

(4 4) 抗原により引き起こされた状態に対する哺乳動物の受動的免疫化に対する医薬の製造のための、家畜から得られた抗体の使用 (H)。

(4 5) 抗体が、I g G、I g A あるいは I g M 抗体である、使用 (H)。

(4 6) 抗体が、高度に精製された I g G 抗体である、使用 (H)。

(47) 抗原が、S. ミュータンス (S. mutans) である、使用 (H)。

(48) 抗原により引き起こされた状態に対する哺乳動物の受動的免疫化に対する医薬の製造のための、家禽の卵から得られた抗体の使用 (I)。

(49) 該抗原が「歯垢」であり、家禽がニワトリであり、ウシ科動物が畜牛であり、あるいは該物質が脱水状態の卵および乳に由来のものである、使用 (H) あるいは使用 (I)。

(50) 下記 a) および b) の有効量の結合からなる、抗原により引き起こされた状態に対する哺乳動物の異種受動的免疫化に有用な組成物 (J)。

a) 抗原に対して免疫化された家禽からの精製された抗体、および

b) 抗原に対して免疫化されたウシ科動物からブリンドされた (printed) 抗体。

(51) 家禽が、ニワトリであって、ウシ科動物が畜牛である、組成物 (J)。

(52) 家禽の抗体が、その家禽の卵から精製されており、ウシ科動物の抗体が、ウシ科動物の乳

から精製されている、組成物 (J)。

(53) 抗原により引き起こされた状態に対する哺乳動物の受動的免疫化に対する医薬の製造のためのウシ科動物から得られた抗体の使用 (K)。

(54) 抗体が、Ig G、Ig A あるいは Ig M 抗体である、使用 (K)。

(55) 抗体が、ウシ科動物から得られた精製された Ig G 抗体である、使用 (K)。

(56) 非経口的に注射可能な賦形剤 (vehicle) 中の、抗原物質に対して免疫化されているウシ科動物の血清あるいは食品生成物から得られた、異種で高分子量の蛋白質抗体からなる組成物である非経口投与用蛋白質抗体組成物 (L)

(ただし、この抗体は、その抗体を投与した対象での血清病あるいはアナフィラキシーショックを生じないものである)。

(57) 抗体が、免疫化されたウシ科動物の血清あるいは乳から得られている、組成物 (L)。

(58) 抗体が、Ig G 抗体である、組成物 (L)。